

***N*-Alkylierte Sulfamide als potentielle *neutral solubility
improving groups* (NeuSIGs) für Proteinkinase-Inhibitoren**

Von der Fakultät für Lebenswissenschaften

der Technischen Universität Carolo-Wilhelmina zu Braunschweig

zur Erlangung des Grades eines

Doktors der Naturwissenschaften

(Dr. rer. nat.)

genehmigte

D i s s e r t a t i o n

von Mehmet Karatas

aus Stadthagen

1. Referent:	Professor Dr. Conrad Kunick
2. Referent:	Professor Dr. Ingo Ott
eingereicht am:	06.04.2020
mündliche Prüfung (Disputation) am:	30.06.2020

Druckjahr 2020

Vorveröffentlichungen der Dissertation

Teilergebnisse aus dieser Arbeit wurden mit Genehmigung der Fakultät für Lebenswissenschaften, vertreten durch den Mentor der Arbeit, in folgenden Beiträgen vorab veröffentlicht:

Tagungsbeiträge

Karatas, M.; Kunick, C.: Low solubility causes low oral bioavailability: Structure design and synthesis of solubilizing moieties for antiparasitic protein kinase inhibitors. (Poster und Vortrag) COST Action CM1307 - Targeted chemotherapy towards diseases caused by endoparasites, Training School "Antiparasitic drug design and screening *in silico*", Siena (Italien), 19.05. – 22.05.2017.

Karatas, M.; Chaikuad, A.; Berger, B.; Preu, L.; Totzke, F.; Kubbutat, M. H. G.; Knapp, S.; Kunick, C.: A cyclic sulfamide as neutral solubility improving group in a new class of Aurora kinase inhibitors. (Poster) DPhG Jahrestagung, Hamburg, 02.10. – 05.10.2018.

Karatas, M.; Chaikuad, A.; Preu, L.; Totzke, F.; Kubbutat, M. H. G.; Knapp, S.; Kunick, C.: *N*-alkylated sulfamides as neutral solubility improving groups for kinase inhibitors. (Poster) 8th EFMC International Symposium on Advances in Synthetic and Medicinal Chemistry (EFMC-ASMC), Athen (Griechenland), 01.09. – 05.09.2019.

Die vorliegende Arbeit entstand in der Zeit von Februar 2017 bis Februar 2020
am Institut für Medizinische und Pharmazeutische Chemie der Technischen
Universität Carolo-Wilhelmina zu Braunschweig unter Anleitung von

Herrn Professor Dr. Conrad Kunick,

dem ich für die Überlassung eines spannenden und herausfordernden Themas,
seiner exzellenten Betreuung sowohl in wissenschaftlicher als auch
menschlicher Sicht und einer aufregenden Zeit in seinem Arbeitskreis herzlich
danken möchte.

Mein besonderer Dank gilt auch

Herrn Professor Dr. Ingo Ott

Für die Übernahme des Korreferats.

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	IV
1 Einleitung.....	1
1.1 Rationales Wirkstoffdesign	2
1.2 Druglikeness	5
1.2.1 Permeabilität.....	7
1.2.2 Löslichkeit.....	7
1.2.3 Vorhersage physikochemischer Eigenschaften	8
LogP-Wert und Schmelzpunkt	9
sp ² /sp ³ -Verhältnis	10
Topological polar surface area.....	10
Ligand efficiency und lipophilic ligand efficiency.....	11
1.3 Strategien der Löslichkeitsverbesserung	12
1.3.1 Saure Strukturelemente zur Löslichkeitsverbesserung	12
1.3.2 Basische Strukturelemente zur Löslichkeitsverbesserung.....	14
1.3.3 Neutrale Strukturelemente zur Löslichkeitsverbesserung	16
1.4 Die Sulfamidstruktur in Wirkstoffen	18
1.5 Proteinkinasen	19
1.5.1 Aurora-Kinase	22
1.5.2 EGFR-Kinase	25
1.6 Zielsetzung	28
2 Strukturbasiertes computergestütztes Wirkstoffdesign	31
2.1 Molecular docking	31
2.2 Bindemodi ausgewählter Inhibitoren der Aurora-Kinase A	33
2.2.1 MLN8054.....	33
2.2.2 Danusertib.....	34
2.3 Bindemodi von Anilinopyrimidinen	36
2.3.1 Redocking.....	36
2.3.2 Bindemodi der NeuSIGs enthaltenden Anilinopyrimidine	42
2.4 Bindemodi verschiedener Liganden in EGFR.....	46
2.4.1 Bindemodi ausgewählter Inhibitoren der EGFR	46
2.5 Bindemodi der NeuSIGs enthaltenden Anilinochinazoline	49
2.6 Schlussfolgerungen aus docking-Studien.....	51

3	Synthese	52
3.1	Edukte	52
3.1.1	2-Methyl-1,2,5-thiadiazolidin-1,1-dioxid	52
3.1.2	<i>N</i> -Alkylierte Sulfamide	54
3.1.3	7-(2-Anilinopyrimidin-4-yl)-1,3,4,5-tetrahydro-2 <i>H</i> -1-benzazepin-2-one	56
3.1.4	Williamsonsche Ethersynthese	58
	Modellsubstanz.....	58
	7-(2-Anilinopyrimidin-4-yl)-1,3,4,5-tetrahydro-2 <i>H</i> -1-benzazepin-2-on.....	59
	Veretherung von 4-[(3-Chlor-4-fluorphenyl)amino]-7-methoxychinazolin-6-ol	61
3.2	Endstufen	62
3.2.1	Verknüpfung von 2-Methyl-1,2,5-thiadiazolidin-1,1-dioxid mit Modellsubstanzen	62
3.2.2	Verknüpfung von <i>N</i> -alkylierten Sulfamiden mit 2-Anilinopyrimidinen	64
3.2.3	Umsetzung von chloralkylierten Anilinopyrimidinen mit Morpholin	66
3.2.4	Verknüpfung von NeuSIGs mit einem Anilinochinazolin	70
4	Acidität von Sulfamiden	75
5	Biologische Aktivität neuer Wirkstoffe	80
5.1	Proteinkinase-inhibitorische Aktivität	80
5.1.1	Anilinopyrimidine	80
5.1.2	Anilinochinazoline.....	84
5.2	Zytotoxizität	88
6	Veränderung physikochemischer Eigenschaften durch NeuSIGs	91
6.1	Vorhergesagte physikochemische Parameter der Anilinopyrimidine und Anilinochinazoline	92
6.2	Einfluss der NeuSIGs auf die LLE- und LE-Werte	97
6.3	Löslichkeitsstudien	100
6.3.1	Vorhergesagte Löslichkeit neuer Anilinopyrimidine und Anilinochinazoline	100
6.3.2	Thermodynamische und kinetische Löslichkeit neuer Anilinopyrimidine und Anilinochinazoline	108
6.4	Fazit	116
7	Zusammenfassung	118
8	Summary.....	121

9	Experimenteller Teil	124
9.1	Geräte und Methoden	124
9.2	<i>Docking</i>	130
9.3	Synthesen und analytische Daten	131
9.4	Bestimmung physikochemischer und chemischer Eigenschaften	179
9.4.1	Vorhergesagte physikochemische Parameter	179
9.4.2	Kinetische Löslichkeit	179
9.4.3	Thermodynamische Löslichkeit	180
9.4.4	Acidität von Sulfamiden	181
9.5	Proteinkinaseassays	182
9.6	Zytotoxizitätsassays	187
10	Verzeichnisse	189
10.1	Tabellenverzeichnis	189
10.2	Abbildungsverzeichnis	190
10.3	Schemataverzeichnis	194
11	Literatur	195
	Danksagung	214

Abkürzungsverzeichnis

a	Aktivität	COST	<i>Coopération européenne dans le domaine de la recherche scientifique et technique</i>
A	Akzeptoratom	COSY	<i>correlated spectroscopy</i>
A ⁻	konjugierte Base, Anion	cS _{Ali}	vorhergesagte Löslichkeit nach Ali in µM
AAV	Allgemeine Arbeitsvorschrift	cS _{ESOL}	vorhergesagte Löslichkeit nach ESOL in µM
ABL1	<i>Abelson murine leukemia viral oncogene homolog 1</i>	d	Dublett
AcCl	Acetylchlorid	D	Donoratom
ACN	Acetonitril	DAD	<i>diode array detector</i>
AcOH	Essigsäure	DC	Dünnschichtchromatographie
ADME	Absorption, Distribution, Metabolismus, Elimination	dd	Dublett vom Dublett
AMBER10	<i>assisted model building and energy refinement</i>	ddd	Dublett vom Dublett vom Dublett
AP	<i>aromatic proportion</i>	dt	Dublett vom Triplett
APCI	<i>atmospheric pressure chemical ionisation</i>	DEPT	<i>Distortionless Enhancement by Polarization Transfer</i>
ASAP	<i>atmospheric solid analysis probe</i>	DFG	Asparaginsäure (D), Phenylalanin (F), Glycin (G)
ATP	Adenosintriphosphat	DIPEA	Diisopropylethylamin
ÄP	Äquivalenzpunkt	DMEM	<i>Dulbecco's Modified Eagle's Medium</i>
BCS	<i>biopharmaceutical classification system</i>	DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
ber.	berechnet	DMF-DMA	<i>N,N</i> -Dimethylformamid-Dimethylacetal
bidest.	bidestilliert	DMSO- <i>d</i> ₆	deuteriertes DMSO
BLAST	<i>Basic Local Alignment Search Tool</i>	DMSO	Dimethylsulfoxid
Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl	EGFR	<i>epidermal growth factor receptor</i>
CDK	<i>cyclin-dependent kinase</i>	EHT	<i>extended Hueckel theory</i>
CDK/Cyc-Typ	<i>cyclin-dependent kinase and cyclin type</i>	EI	Elektronenstoßionisation
Chloroform- <i>d</i>	Deuteriertes Chloroform	ESI	Elektronenspray-Ionisation
CHN	Elementare Zusammensetzung	ESOL	<i>Estimated SOLubility</i>
clogP	vorhergesagter Verteilungskoeffizient	FFAR1	<i>free fatty acid receptor 1</i>
clogS _E	Löslichkeitsvorhersage nach ESOL	Fsp ³	<i>fraction of sp³-hybridized carbons</i>
clogS _A	Löslichkeitsvorhersage nach Ali	FT-IR	Fourier Transformation-Infrarotspektroskopie
CPC	<i>chromosomal passenger complex</i>	FWHM	<i>Full Width at Half Maximum</i>
cpK _s	theoretischer pK _s	gef.	gefunden

<i>gk</i>	<i>gatekeeper</i>	MW	<i>molecular weight</i>
GOLD	<i>Genetic Optimisation for Ligand Docking</i>	MOE	<i>Molecular Operating Environment</i>
GSE	<i>General Solubility Equation</i>	NCE	<i>New Chemical Entities</i>
HA	<i>heavy atoms</i>	NMR	<i>nuclear magnetic resonance</i>
HBA	<i>hydrogen bond acceptor</i>	NeuSIGs	<i>neutral solubility improving groups</i>
HER	<i>human epidermal growth factor receptor</i>	P-gp	P-Glykoprotein
hERG	<i>human ether-a-go-go related gene</i>	PAMPA	<i>parallel artificial membrane permeability assay</i>
HPLC	<i>high performance liquid chromatography</i>	PDB	<i>Protein Data Bank</i>
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>	pIC ₅₀	negativ dekadischer Logarithmus des IC ₅₀ -Werts
HSQC	<i>Heteronuclear Single Quantum Coherence</i>	PI3K-AKT	<i>phosphoinositide-3-kinase-protein kinase B</i>
HTS	<i>high throughput screening</i>	PLK1	<i>polo-like kinase 1</i>
HRMS	<i>high resolution mass spectrometry</i>	ppm	<i>parts per million</i>
HÄP	Halbäquivalenzpunkt	PSA	<i>polar surface area</i>
IC ₅₀	<i>half maximal inhibitory concentration</i>	q	Quartett
INCENP	<i>inner centromere protein</i>	QSAR	<i>quantitative structure-activity relationship</i>
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>	quint.	Quintett
<i>J</i>	Kopplungskonstante	RB	rotierbare Bindungen
JAK/STAT	<i>Janus kinases/signal transducer and activator of transcription protein</i>	RNU	<i>relative nephelometric unit</i>
K	Dissoziationskonstante	RMSD	<i>root mean square deviation</i>
K _s	Säuredissoziationskonstante	Ro5	<i>rule of five</i>
LE	<i>ligand efficiency</i>	rpm	<i>revolutions per minute</i>
LLE	<i>lipophilic ligand efficiency</i>	RT	Raumtemperatur
logP	Oktanol-Wasser-Verteilungskoeffizient	s	Singulett
logS _{Yalkowsky}	Löslichkeitsvorhersage nach Yalkowsky	SAC	<i>spindle-assembly checkpoint</i>
[M] ⁺⁺	Molekülradiokalkation	S _{kin., pH 7.4}	Kinetische Löslichkeit in µM bei pH 7.4
[M+H] ⁺	protoniertes Molekülion	S _{therm., pH 7.4}	Thermodynamische Löslichkeit in µM bei pH 7.4
m	Multipllett	S _{Yalkowsky}	Vorhergesagte Löslichkeit nach Yalkowsky in µM
M _r	relative Molmasse	Schmp.	Schmelzpunkt
m/z	Masse-zu-Ladung-Verhältnis	SDS-PAGE	<i>sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis</i>
MAP	<i>mitogen-activated protein</i>	smKI	<i>small molecular kinase inhibitors</i>
MS	Massenspektrometrie		

Abkürzungsverzeichnis

t	Triplett	VEGFR-2	<i>vascular endothelial growth factor receptor-2</i>
t _M	Totzeit	VS	<i>virtual screening</i>
t _{M+S}	Gesamtretentionszeit	wt	<i>wildtype</i>
TGF-α	<i>transforming growth factor alpha</i>	ΔG	freie Bindungsenergie nach Gibbs
THF	Tetrahydrofuran	ΔpH/ΔV	pH-Änderung/ Volumenänderung
TMS	Tetramethylsilan	δ	chemische Verschiebung
TPSA	<i>topological polar surface area</i>	λ _{max}	Absorptionsmaximum
UV	Ultraviolett		

1 Einleitung

Die Entwicklung von potentiellen Arzneistoffen ist mit einem hohen Kosten- und Zeitaufwand verbunden. Zu Beginn erfolgt die Suche nach geeigneten Zielstrukturen, den sogenannten Targets, mit denen ein potentieller Arzneistoff interagieren kann. Das Target sollte für die adressierte Erkrankung relevant und *druggable* sein. Dabei sollte das Target für den entsprechenden Arzneistoff zugänglich sein, um eine biologische Wirkung auszulösen. Die Durchführung von *in vivo* und *in vitro* Assays kann eine Identifizierung und Validierung des Targets ermöglichen. Die anschließende Suche nach Stoffen, die eine biologische Wirkung in *in vitro* Assays zeigen, erfolgt unter Zuhilfenahme des rationalen Wirkstoffdesigns.¹ Auf diese Weise identifizierte Hitstrukturen werden weiter zu sogenannten Leitstrukturen entwickelt. Die Leitstrukturen werden unter anderem hinsichtlich ihrer Selektivität optimiert und als klinische Kandidaten in präklinischen und klinischen Studien auf ihre Wirksamkeit und Unbedenklichkeit untersucht.^{1, 2} Nur wenige dieser klinischen Kandidaten erreichen schließlich das Stadium der Zulassung und Vermarktung als Arzneistoff (Abbildung 1-1).¹ Fehlende Wirkung in klinischen Studien am Menschen oder toxikologische Ursachen führen häufig zum Scheitern vielversprechender Arzneistoffkandidaten.³⁻⁵

Sowohl die Wirksamkeit als auch die toxikologischen Eigenschaften eines Wirkstoffs können durch die physikochemischen Eigenschaften, wie die Löslichkeit, beeinflusst werden.⁶ Dabei werden durch mangelnde Löslichkeit die Absorption, die Distribution, der Metabolismus und die Eliminierung (ADME) des Arzneistoffkandidaten beeinträchtigt.⁷ Durch Verbesserung der physikochemischen Eigenschaften von Wirkstoffen kann die orale Bioverfügbarkeit verbessert werden.⁸ Als orale Bioverfügbarkeit wird der Anteil eines oral applizierten Arzneistoffs, der in den systemischen Kreislauf gelangt, bezeichnet.⁹ Der Fokus der Arzneistoffentwicklung liegt hierbei insbesondere auf der Verbesserung der Wasserlöslichkeit, da bei ca. 40% der neu identifizierten Wirkstoffe, der sogenannten *New Chemical Entities* (NCE), eine schlechte Wasserlöslichkeit festgestellt werden konnte.¹⁰ Eine unzureichende Löslichkeit kann zu Problemen in der Durchführung von *in vitro* und *in vivo* Assays führen.^{1, 3} Dennoch steigt die Zahl der NCE mit einer unzureichenden Wasserlöslichkeit

stetig an, da eine hinreichende Lipophilie oftmals für eine ausreichende Affinität zum Target erforderlich ist.^{11, 12} Somit sollten von potentiellen Arzneistoffkandidaten fortlaufend die physikochemischen Eigenschaften untersucht werden, um Schwierigkeiten während des späteren Entwicklungsprozesses zu vermeiden.^{3, 13}

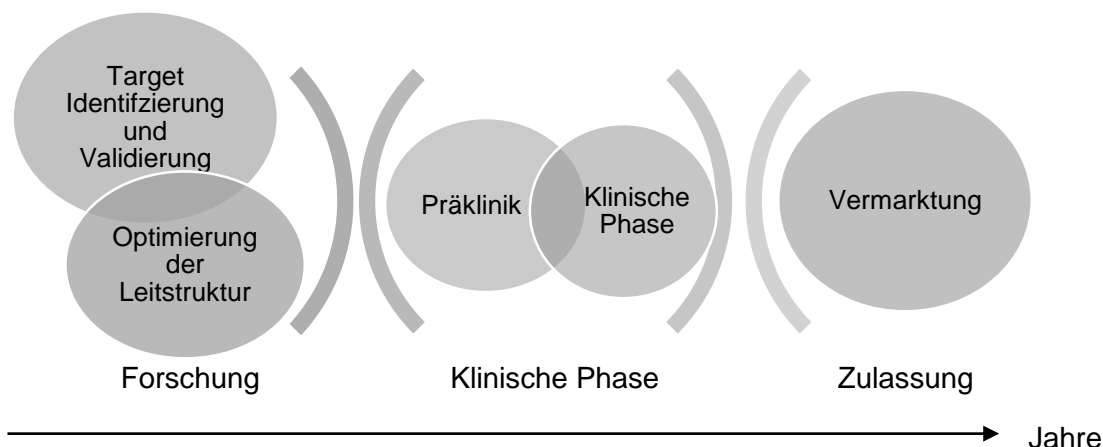


Abbildung 1-1: Schematische Darstellung der Entwicklung eines Arzneistoffs modifiziert nach HUGHES *et al.*¹

1.1 Rationales Wirkstoffdesign

In der Entwicklung neuer Arzneistoffkandidaten gewinnt das rationale Wirkstoffdesign mit computergestützten Verfahren immer mehr an Bedeutung¹⁴ und löst die klassische Vorgehensweise der medizinischen Chemiker, der intuitiven, auf der jeweiligen Erfahrung basierende Synthese, ab. Beim rationalen Wirkstoffdesign werden unter anderem Wechselwirkungen zwischen Ligand und der Bindetasche der entsprechenden Zielstruktur näher untersucht.^{14, 15} Zu Beginn der Entwicklung erfolgt neben der Identifizierung des Targets auch dessen Validierung, in der ein Zusammenhang zwischen dem adressierten Target und der ausgelösten Erkrankung festgestellt wird. Anschließend erfolgt die Suche nach Hitstrukturen mit Hilfe eines Hochdurchsatz-Verfahrens (HTS, engl. *high throughput screening*). Beim HTS werden Stoffbibliotheken, die mehrere Millionen Verbindungen enthalten können, auf biologisch aktive Verbindungen, die sogenannten Hits, automatisch durch zahlreiche *in vitro* Assays durchsucht. Anschließend werden diese Hits über Optimierungsprozesse zu potentiellen Wirkstoffkandidaten (leads) entwickelt, welche hinsichtlich der Selektivität gegenüber dem Target als auch der Potenz verbessert werden sollen.^{1, 2} Die

kombinatorische Chemie hingegen umfasst die Synthese von einer Vielzahl von Verbindungen, die ausgehend von einem Grundgerüst mit verschiedenen Substituenten modifiziert werden. Dies ermöglicht eine Entwicklung von Substanzbibliotheken für Testzwecke.^{16, 17} Alternativ kann das virtuelle Screening (VS, engl. *virtual screening*) im Rahmen des computergestützten Wirkstoffdesigns verwendet werden. Mit Hilfe von verschiedenen computerbasierten Methoden und Moleküldatenbanken können potentielle Wirkstoffkandidaten entwickelt bzw. identifiziert werden. Die verwendeten computergestützten Methoden im rationalen Wirkstoffdesign werden in struktur- und ligandenbasierte Ansätze unterteilt.^{15, 18}

Beim strukturbasierten Ansatz werden auf Grundlage der dreidimensionalen Struktur des Proteins gezielt Liganden entwickelt und die Wechselwirkungen zwischen Ligand und Protein optimiert. Die Strukturaufklärung erfolgt mittels Röntgendiffraktometrie oder Kernspinresonanzspektroskopie (NMR, engl. *nuclear magnetic resonance*).^{18, 19} Beide Verfahren sind kosten- und zeitaufwendig. Daneben ist die experimentelle Ermittlung einer Kristallstruktur eines Proteins oftmals nicht möglich. Als Alternative kann für die Entwicklung einer dreidimensionalen Struktur ein Homologiemodell erstellt werden.¹⁸ Hierbei wird unter Zuhilfenahme von Datenbanken wie dem *basic local alignment search tool* (BLAST)²⁰ ausgehend von der vorliegenden Proteinsequenz eine Ähnlichkeitssuche durchgeführt.¹⁸ Bei einer Sequenzähnlichkeit von mehr als 40% kann aus einer bekannten dreidimensionalen Struktur eines Proteins die Struktur eines zweiten, noch nicht strukturbekannten, Proteins vorhergesagt werden.¹⁸ Die *Protein Data Bank* (PDB) stellt eine Sammlung der Kristallstrukturen verschiedener Protein-Ligand-Komplexe dar. Anhand der gewonnenen Informationen zur 3D-Struktur eines Proteinkomplexes können *docking*-Untersuchungen durchgeführt werden, mit Hilfe derer eine Konzeption von Liganden möglich ist.¹⁸

Ist die 3D-Struktur des Proteins unbekannt, kann der ligandenbasierte Ansatz angewendet werden. Voraussetzung hierfür ist jedoch die Verfügbarkeit von bekannten Strukturelementen, die mit dem gewünschten Target interagieren. Es können zwei Methoden des ligandbasierten Ansatzes verfolgt werden: das Pharmakophor *modeling* und die Quantitative Struktur-Aktivitäts-Beziehung (QSAR, engl. *quantitative structure-activity relationship*).¹⁸

Strukturelemente eines Moleküls, die essentiell für dessen biologische Wirkung am adressierten Target sind, werden als Pharmakophor bezeichnet. Dabei werden bei diesen Strukturelementen die elektronischen und sterischen Eigenschaften berücksichtigt, da diese für die Wechselwirkung mit dem Target entscheidend sind.²¹ Anhand der Literatur können gezielt Liganden gesucht werden, die mit dem gewünschten Target interagieren. Aus dieser erstellten Ligandenbibliothek können essentielle Strukturelemente wie zum Beispiel Wasserstoffbrückendonatoren, -akzeptoren oder basische bzw. saure Gruppen und Konformationen abgeleitet werden. Mit diesen Informationen kann ein Pharmakophor-Modell aufgestellt werden.^{18, 22}

Das QSAR ist eine Methode, die eine quantitative Korrelation zwischen einer Struktur und deren physikalischen, chemischen und biologischen Aktivitäten erstellt. Auf Grundlage von experimentellen Daten zu Struktur-Aktivitäts-Beziehungen werden mathematische Gleichungen aufgestellt, mit denen eine Vorhersage wie zum Beispiel der biologischen Aktivität erfolgen kann.^{15, 16, 18} Experimentelle Methoden wie HTS und computerbasierte Methoden wie virtuelles Screening können in der Entwicklung potentieller Wirkstoffe gemeinsam angewendet werden, da beide Strategien das gleiche Ziel verfolgen. Neben einer Kosten- und Zeitersparnis können so unter anderem Molekülbibliotheken mit einem höheren Informationsgehalt bezüglich biologischer und chemischer Eigenschaften aufgebaut werden.²³ Die Hits aus dem HTS können u. a. unter Anwendung computerchemischer Verfahren in ihren ADME-Eigenschaften optimiert werden, um beispielsweise die Anforderungen der *druglikeness* zu erfüllen.²⁴

1.2 Druglikeness

Mit der *rule of five* (Ro5) nach LIPINSKI *et al.*²⁵ war es erstmals möglich, die *druglikeness* von potentiellen Wirkstoffen zu bewerten.²⁶ Bei einer Anzahl an Wasserstoffbrückendonatoren größer fünf, Wasserstoffbrückenakzeptoren größer zehn, einer relativen Molekülmasse von größer 500 und einem berechneten logP-Wert von größer fünf ist eine schlechte Absorption und Permeabilität durch Biomembranen für den betrachteten Wirkstoff wahrscheinlich. Die Regel ist nicht anzuwenden für Verbindungen, die durch aktiven Transport durch Biomembranen in das Zellinnere gelangen.²⁵ Die Ro5 sollte jedoch nicht als strenges Kriterium für die Beurteilung eines möglichen Arzneistoffkandidaten angesehen werden, da laut BICKERTON *et al.*²⁷ bei etwa 16% von 771 auf dem Markt befindlichen Arzneistoffen ein bis mehrere Kriterien der Ro5 nicht erfüllt wurden. Beispiele hierfür sind Atorvastatin und Montelukast sowie Naturstoffe wie die Makrolide Ivermectin oder Sirolimus.^{27, 28} Untersuchungen von VEBER *et al.*²⁹ zeigten, dass neben der Ro5 die Anzahl der rotierbaren Bindungen und die *polar surface area* (PSA) innerhalb eines Moleküls die orale Bioverfügbarkeit beeinflussen. Eine orale Bioverfügbarkeit von größer 20–40% kann erzielt werden, wenn die Anzahl an rotierbaren Bindungen kleiner als zehn und die PSA kleiner als 140 Å² ist oder die Summe der Zahl an Wasserstoffbrückendonatoren und -akzeptoren weniger als zwölf und die Anzahl an rotierbaren Bindungen weniger als zehn beträgt.²⁹

In der Entwicklung potentieller Arzneistoffe sollten die nach LIPINSKI *et al.*²⁵ oder VEBER *et al.*²⁹ postulierten Regeln nicht als Gesetze, sondern vielmehr als Richtlinien angesehen werden.³⁰ Synthese, Aufreinigung, chemische Stabilität und Formulierungsentwicklung sind als weitere Kriterien zu nennen.²⁹

Für die Wirksamkeit und Effektivität der potentiellen Wirkstoffe ist eine ausreichend hohe orale Bioverfügbarkeit erforderlich, die zum einen ein Mindestmaß an Löslichkeit im wässrigen Milieu des Gastrointestinaltrakts voraussetzt und zum anderen eine ausreichend hohe Permeabilität erfordert.^{9, 31, 32} Unzureichende Löslichkeit kann zu falsch positiven oder falsch negativen Ergebnissen in biologischen Assays führen, sodass in den frühen Phasen der Entwicklung potentieller Wirkstoffe die Löslichkeit experimentell oder mit Hilfe von *in silico*-Verfahren theoretisch bestimmt werden sollte.^{33–35}

Die Löslichkeit und die Permeabilität der Arzneistoffe wird im Biopharmazeutischen Klassifizierungssystem (BCS, engl. *biopharmaceutical classification system*) berücksichtigt, welches Wirkstoffe in vier Klassen einteilt.³⁶ Vermehrt gelangen Wirkstoffe auf den Markt, die der Klasse II und IV des BCS zugeordnet werden und von einer schlechten Löslichkeit geprägt sind (Abbildung 1-2).^{37, 38} Zu diesen Stoffen gehören insbesondere auch therapeutisch eingesetzte Hemmstoffe von Proteinkinasen, die sogenannten *small molecular kinase inhibitors* (smKI).³⁹ Durch Formulierungsentwicklung wie dem Zusatz von Cyclodextrinen, grenzflächenaktiven Substanzen oder geeigneter *drug delivery* Systeme kann die orale Bioverfügbarkeit dieser Wirkstoffe verbessert werden.³⁷ Allerdings ist dies mit einem großen Aufwand und hohen Kosten verbunden.⁴⁰ Eine weitere Möglichkeit zur Verbesserung der physikochemischen Eigenschaften ist das rationale Wirkstoffdesign, welches für potentielle Wirkstoffe der Klassen III und IV des BCS durchgeführt wird.³⁷

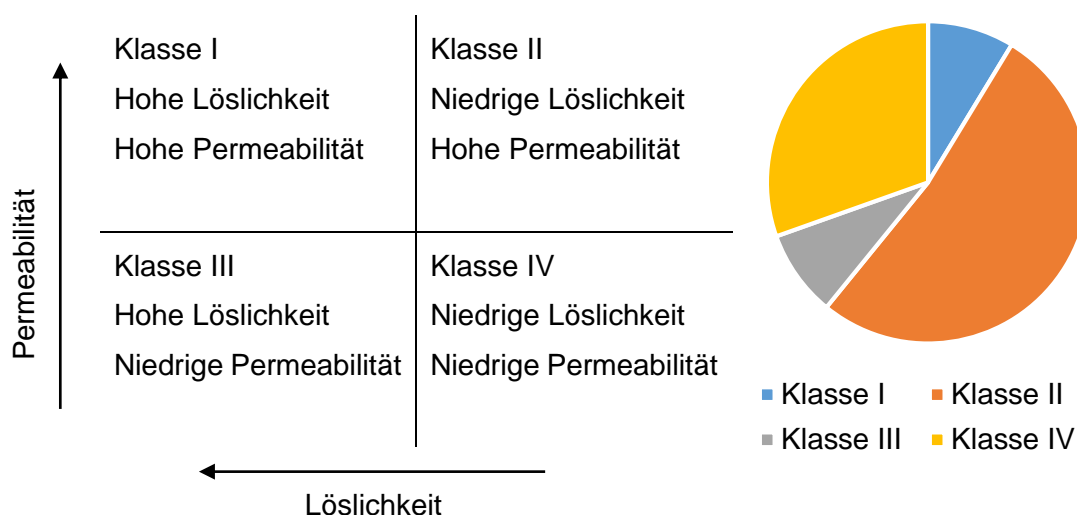


Abbildung 1-2: BCS modifiziert nach FAHR *et al.*³⁷ Das Kreisdiagramm stellt die Zuordnung von 23 smKI in das BCS dar.³⁹

1.2.1 Permeabilität

Für eine ausreichend hohe orale Bioverfügbarkeit spielt neben der Löslichkeit die Permeabilität eine wichtige Rolle.⁴¹ Die Bestimmung der Permeabilität kann *in vitro* mit einer Caco-2 Zelllinie oder einem *parallel artificial membrane permeability assay* (PAMPA) bestimmt werden. Beide Verfahren geben eine Aussage über die Transportmechanismen durch die Membranen und können miteinander kombiniert werden. Beim PAMPA wird eine Phospholipidschicht verwendet. Hier werden nur passive Diffusionsvorgänge beobachtet, wohingegen bei der Caco-2 Zelllinie eine *monolayer*-Zellschicht verwendet wird, bei der neben der passiven Diffusion sowohl aktive als auch parazelluläre Transportvorgänge beobachtet werden.⁴² Die Nachteile der Verwendung der Caco-2 Zelllinie sind die mögliche Akkumulation von schlecht löslichen Verbindungen auf dem *monolayer*⁴¹ und die hohen Kosten.⁴²

1.2.2 Löslichkeit

Die Löslichkeit wird definiert als die maximale Stoffmenge, die sich in einem bestimmten Medium bei einer bestimmten Temperatur noch lösen lässt. Dabei wird nach dem physikalischen Vorgang zwischen der thermodynamischen und kinetischen Löslichkeit unterschieden.⁴³ Bei der Betrachtung der Löslichkeitswerte sollten die experimentellen Rahmenbedingungen berücksichtigt werden, da die Löslichkeit von vielen Faktoren abhängt und somit keinen spezifischen Wert für eine Substanz ergibt.³⁴ Lösemittelparameter wie der pH-Wert, der verwendete Puffer und die Temperatur, aber auch die verwendete Methode zu ihrer Bestimmung, beeinflussen die ermittelte Löslichkeit.⁴³

Bei der thermodynamischen Löslichkeit handelt es sich um die maximale Konzentration der gelösten Form in einem Gleichgewicht zur ungelösten, thermodynamisch stabilsten Kristallform im Untersuchungsmedium.⁴⁴ Dabei wird ein Überschuss der entsprechenden Verbindung in das Medium gegeben und die Löslichkeit nach Einstellung eines Gleichgewichtszustands, welcher nach 24 bis 72 Stunden experimentell bestimmt wird, ermittelt. Die kinetische Löslichkeit unterscheidet sich von der thermodynamischen Löslichkeit dahingehend, dass die Verbindung in einer Stammlösung aus einem organischen Lösemittel wie DMSO gelöst wird. Anschließend wird die Lösung mit einem wässrigen Lösemittel

versetzt.^{33, 38, 45} Die kinetische Löslichkeit ist die Löslichkeit der am schnellsten präzipitierenden Form in dem entsprechenden Untersuchungsmedium.⁴⁴ Häufig ist die kinetische Löslichkeit höher als die thermodynamische Löslichkeit. Ursache hierfür ist der Zusatz eines Lösevermittlers wie DMSO.³⁸ Die Löslichkeit kann als logS-Wert ausgedrückt werden. Dieser Wert kann neben der experimentellen Bestimmung auch vorhergesagt werden. Hierfür existiert eine Vielzahl von Modellen, welche auf Grundlage von physikochemischen Deskriptoren die Löslichkeit berechnen. Eine Bewertung der Löslichkeit des potentiellen Wirkstoffs kann somit im frühen Entwicklungsprozess erfolgen.⁴⁵ Eine Löslichkeit von größer als 60 µg/mL ist für Wirkstoffe mit einer mäßigen Potenz und Permeabilität erforderlich.^{33, 46} Wirkstoffe, die eine geringe Permeabilität aufweisen, sollten eine Löslichkeit von größer als 200 µg/mL aufzeigen, um eine ausreichende orale Absorption zu erzielen.⁴⁶

1.2.3 Vorhersage physikochemischer Eigenschaften

Die Pharmakodynamik und die Pharmakokinetik stellen wichtige Eckpfeiler in der Entwicklung potentieller Arzneistoffe dar. Die Pharmakodynamik beschreibt die Vorgänge im Körper, die durch den Wirkstoff ausgelöst werden, wohingegen die Pharmakokinetik die Beeinflussung des Wirkstoffs durch den Körper berücksichtigt. Dabei finden die ADME-Prozesse statt.⁴⁷ Seit den 1980er Jahren zeichneten sich Arzneistoffkandidaten verstärkt durch eine hohe Lipophilie und eine hohe relative Molmasse aus, die Ursachen für das Scheitern in präklinischen und klinischen Studien darstellten.⁸ Dies lag an einer niedrigen intestinalen Absorption bei oraler Aufnahme des potentiellen Wirkstoffs, woraus eine niedrige orale Bioverfügbarkeit resultierte.⁴⁸ Physikochemische Eigenschaften werden inzwischen bereits während der Entwicklung eines Arzneistoffkandidaten betrachtet.¹¹ Löslichkeit, Permeabilität, logP-Wert und die *polar surface area* (PSA) können als physikochemische Eigenschaften die pharmakokinetischen und pharmakodynamischen Prozesse im Körper beeinflussen.⁴⁹ Zusätzlich zu diesen Eigenschaften werden der Schmelzpunkt und das sp²/sp³-Verhältnis in der Entwicklung eines potentiellen Wirkstoffs berücksichtigt.⁸ Neben der Prüfung der physikochemischen Eigenschaften wird bei potentiellen Wirkstoffen natürlich auch die biologische Aktivität untersucht. Das Zusammenwirken beider Eigenschaften

wird durch die *ligand efficiency* (LE) oder die *lipophilic ligand efficiency* (LLE) ausgedrückt.³⁰

LogP-Wert und Schmelzpunkt

Der logP-Wert und der Schmelzpunkt (Schmp. in °C) einer Verbindung stellen wichtige Parameter für die Vorhersage der Löslichkeit nach Yalkowsky dar. Die Yalkowsky-Gleichung (Gleichung 1.1), auch bezeichnet als *General Solubility Equation* (GSE), ermöglicht eine einfache Vorhersage der Löslichkeit, bei welcher die Parameter Schmelzpunkt und clogP berücksichtigt werden.⁵⁰

$$\log S_{Yalkowsky} = 0.5 - 0.01 \times (\text{Schmp.} - 25) - \text{clogP} \quad (\text{Gleichung 1-1})$$

Der logP-Wert stellt den Logarithmus des Oktanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten einer Verbindung dar. Darin wird die Verteilung der Verbindung zwischen der lipophilen und der hydrophilen Phase betrachtet. Positive logP-Werte repräsentieren Verbindungen mit einer höheren Neigung zu der lipophilen als zur hydrophilen Phase. Die experimentelle Bestimmung vom logP-Wert erfolgt potentiometrisch oder chromatographisch.⁶ Daneben kann unter Verwendung diverser Modelle der logP-Wert vorhergesagt werden (clogP). Dabei kann zwischen einem atombasierten und einem fragmentbasierten Ansatz zur Berechnung des logP-Werts unterschieden werden. Während beim atombasierten Ansatz der Beitrag jedes einzelnen Atoms innerhalb eines Moleküls berücksichtigt wird, verwendet der fragmentbasierte Ansatz zusätzlich Korrekturfaktoren, die intramolekulare Wechselwirkungen zwischen einzelnen Atomen berücksichtigen.⁵¹ Die berechneten logP-Werte sind je nach verwendetem Modell mit einem Fehler zwischen 0.3 und 1.2 log-Einheiten verbunden.⁵² Bei der Berechnung nach der Yalkowsky-Gleichung sollte angegeben werden, ob der experimentelle oder der berechnete logP-Wert verwendet wurde, um die Zuverlässigkeit der Ergebnisse korrekt darzustellen. Außerdem ist für den Lösungsvorgang einer Verbindung deren intermolekulare Wechselwirkung im Kristallgitter sowie die intramolekulare Wechselwirkung mit dem Lösungsmittel wichtig.⁴⁶

Die Schmelztemperatur ermöglicht Aussagen zur Stabilität des Kristallgitters einer Verbindung. Die Packungsdichte eines Kristalls hat Einfluss auf die Schmelztemperatur. Durch Minimierung von planaren und symmetrischen

Strukturelementen innerhalb eines Moleküls kann die Packungsdichte im Kristall gesenkt werden und folglich zu einem niedrigen Schmelzpunkt führen. Dadurch kann eine Verbesserung der Löslichkeit erzielt werden.⁵³

sp²/sp³-Verhältnis

Der Schmelzpunkt und die Wasserlöslichkeit einer Verbindung werden durch das Verhältnis der sp²- und sp³-hybridisierten Kohlenstoffatome beeinflusst. Je geringer der Anteil an sp²-hybridisierten Kohlenstoffatomen in der Verbindung ist, desto geringer ist der Schmelzpunkt und desto höher ist die Wasserlöslichkeit. Die Grundlage für die Berechnung stellt der Anteil sp³-hybridisierter Kohlenstoffatome (F_{sp^3} , engl. *fraction of sp³-hybridized carbons*) dar. Dabei dividiert man die Anzahl an sp³-hybridisierten Kohlenstoffatomen durch die Gesamtzahl an Kohlenstoffatomen innerhalb der Verbindung (Gleichung 1-2).^{8, 54}

$$F_{sp^3} = \frac{\text{sp}^3\text{-hybridisierte Kohlenstoffatome}}{\text{Gesamtzahl Kohlenstoffatome}} \quad (\text{Gleichung 1-2})$$

Für potentielle Wirkstoffe nahm im Durchschnitt der F_{sp^3} -Wert während der Entwicklung ($F_{sp^3} = 0.36$) bis zur Marktreife ($F_{sp^3} = 0.47$) um 0.11 zu.⁸ Daher sollte in der Entwicklung eines potentiellen Wirkstoffs das sp²/sp³-Verhältnis berücksichtigt und möglichst nicht erhöht werden.

Topological polar surface area

VEBER *et al.*²⁹ stellte in seinen Untersuchungen fest, dass neben den Parametern der Ro5 auch die Anzahl an rotierbaren Bindungen und die *polar surface area* (PSA) für die Erzielung einer ausreichend hohen oralen Bioverfügbarkeit einer Verbindung berücksichtigt werden sollten. Die passiven Transportvorgänge durch Biomembranen und damit die intestinale Absorption werden u. a. durch die PSA einer Verbindung beeinflusst. Eine Bioverfügbarkeit von größer als 20% kann erreicht werden, wenn die PSA kleiner als 140 Å² ist.²⁹ Die PSA wird auf Grundlage von 3D-Strukturen berechnet. Die *topological polar surface area* (TPSA) kann jedoch auch ohne Vorliegen der 3D-Struktur kalkuliert werden. ERTL *et al.*⁵⁵ wiesen verschiedenen Atomtypen mit unterschiedlichen Bindungseigenschaften einen PSA-Wert zu. Die Summe aller PSA-Werte innerhalb einer Verbindung ergab den TPSA-Wert.⁵⁵ Weiterhin konnte eine Korrelation zwischen clogP-Wert und TPSA

festgestellt werden. Neben der Toxizität wird auch die Spezifität gegenüber dem Target durch den TPSA-Wert beeinflusst. Eine höhere Toxizität und eine geringere Spezifität zeigten Verbindungen mit einem hohen clogP-Wert und einem niedrigen TPSA-Wert.^{8, 56}

Ligand efficiency und lipophilic ligand efficiency

Die Beurteilung eines potentiellen Arzneistoffkandidaten erfolgt neben seinen physikochemischen Eigenschaften auch hinsichtlich der biologischen Aktivität. Die Ro5 nach LIPINSKI *et al.*²⁵ berücksichtigt Ersteres, jedoch nicht die biologische Aktivität.¹¹ Mit den Parametern LE und LLE werden beide gemeinsam betrachtet, sodass diese zur Beurteilung der *druglikeness* in der frühen Phase der Entwicklung eines Arzneimittels verwendet werden können. Der Quotient aus der freien Bindungsenergie nach Gibbs (ΔG) und der Anzahl der Nichtwasserstoffatome (HA, engl. *heavy atoms*) ergibt den LE-Wert. Unter Standardbedingungen (Temperatur, Konzentration und pH-Wert) kann ΔG näherungsweise berechnet werden. Hierbei wird der Wert -1.37 kcal/mol mit der logarithmierten Dissoziationskonstante K_D bzw. dem IC_{50} -Wert (engl. *half maximal inhibitory concentration*) multipliziert. Division durch die Anzahl der Nichtwasserstoffatome ergibt den LE-Wert (Gleichung 1-3).^{11, 57}

$$LE = \frac{\Delta G}{HA} \text{ oder } LE = \frac{1.37 \text{ kcal/mol}}{HA} \times pIC_{50} \quad (\text{Gleichung 1-3})$$

Die Verknüpfung der Lipophilie mit der biologischen Aktivität wird durch den LLE-Wert beschrieben. Subtraktion des clogP-Werts vom negativen dekadischen Logarithmus des IC_{50} -Werts (pIC_{50}) ergibt den LLE-Wert (Gleichung 1-4). Für potentielle Arzneistoffkandidaten wird ein LE-Wert von größer als 0.3 kcal/mol/HA und ein LLE-Wert zwischen fünf und sieben angestrebt.^{8, 11, 57}

$$LLE = pIC_{50} - clogP \quad (\text{Gleichung 1-4})$$

1.3 Strategien der Löslichkeitsverbesserung

Eine unzureichende Löslichkeit des potentiellen Arzneistoffkandidaten im Untersuchungsmedium kann zu Schwierigkeiten in der Durchführung von *in vitro* und *in vivo* Assays führen.⁷ Zur Verbesserung der Löslichkeit stehen neben den physikalischen Methoden wie der Partikelgrößenreduktion, der Nutzung von verschiedenen Kristallmodifikationen, dem Zusatz von Cosolventien bzw. Cyclodextrinen, der Nutzung von Mikroemulsionen oder Nanosuspensionen und liposomaler Formulierungen, die chemischen Methoden zur Verfügung. Dabei kann die Löslichkeitserhöhung durch Nutzung verschiedener Puffersysteme zur Einstellung eines bestimmten pH-Werts, durch Salzbildung oder durch den Einbau von löslichkeitsverbessernden Gruppen erzielt werden.³¹ Bei der Durchführung von *in vivo* Assays ist die Formulierungsentwicklung vorteilhaft, wohingegen sie beim *in vitro screening* weniger geeignet ist.⁵⁸ Kovalent gebundene löslichkeitsverbessernde Gruppen können Bestandteil eines Prodrugs sein und nach Aufnahme in den Körper abgespalten werden, wobei die Wirkform freigesetzt wird. Möglich ist aber auch die irreversible Einführung von löslichkeitsverbessernden Gruppen, die damit fester Bestandteil der Wirkform werden können. Jedoch ist bei der Einführung solcher Gruppen zu beachten, dass sie nicht die biologische Aktivität beeinträchtigen.⁵⁹ Ferner kann abgeleitet von der Yalkowsky-Gleichung durch Reduzierung der Lipophilie und des Schmelzpunkts die Löslichkeit verbessert werden.^{50, 60} Die zur Verbesserung der Löslichkeit eingeführten Strukturelemente können polare, aber auch saure, basische oder neutrale Eigenschaften innehaben.⁶⁰ Dabei gilt es zu bedenken, dass der Ladungszustand einer Verbindung neben der Löslichkeit auch die Lipophilie und die Permeabilität beeinflusst. Daraus kann eine Veränderung der pharmakokinetischen und toxikologischen Eigenschaften der Verbindung resultieren.⁶¹

1.3.1 Saure Strukturelemente zur Löslichkeitsverbesserung

Saure Verbindungen zeichnen sich dadurch aus, dass sie bei einem pH-Wert, der größer als ihr pK_s -Wert ist, überwiegend ionisiert vorliegen. Dabei stellt der pK_s -Wert ein Maß für die Säurestärke dar. Hierbei fungieren Säuren als Protonendonatoren und liegen als Anionen vor.⁶² Saure Strukturelemente können

in Form von Carbonsäuren oder Sulfonsäuren direkt in das Molekül inkorporiert werden.⁵⁹ Abbildung 1-3 enthält potentielle Wirkstoffe mit sauren Strukturelementen. Die Verbindung **1** stellt eine Vorstufe in der Entwicklung von Alisertib, einem Inhibitor der Aurora-Kinase A, dar, dessen Natriumsalz eine Löslichkeit von größer als 10 mg/ml aufwies.⁶³ Strukturmodifikationen an Artemisinin, einem Wirkstoff gegen Malaria, führten u. a. zur Verbindung **2**, indem ausgehend von Dihydroartemisinin das entsprechende Bernsteinsäurederivat synthetisiert wurde.⁵⁹

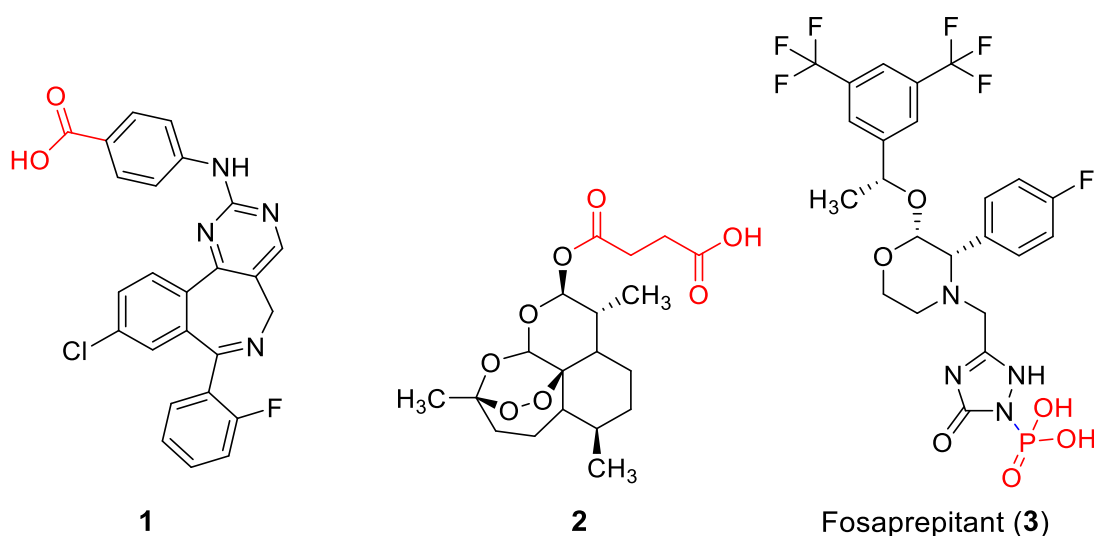


Abbildung 1-3: Kennzeichnung von sauren Strukturelementen in potentiellen Wirkstoffen (**1-3**) in Rot.

Eine Phosphorsäureamid-Funktionalität enthält der Neurokinin-1-Rezeptor-Antagonist Fosaprepitant (**3**), der bei Übelkeit und Erbrechen im Rahmen der Chemotherapie indiziert ist. Letzterer stellt ein Prodrug von Aprepitant dar.^{59, 64} Neben den löslichkeitsverbessernden Eigenschaften von sauren Strukturelementen können diese auch die biologische Aktivität beeinflussen.^{59, 65} Aufgrund der negativen Ladung können jedoch Schwierigkeiten hinsichtlich der Permeation durch die negativ geladenen Biomembranen bestehen. Zudem wird eine erhöhte Plasmaproteinbindung gegenüber Humanalbumin beobachtet.⁶⁶ Glucuronisierte Metabolite können durch die Reaktion von Carbonsäuren mit aktivierter Glucuronsäuren gebildet werden. Dabei können biologisch aktive Metabolite entstehen, die unerwünschte Nebenwirkungen hervorrufen können.^{59, 65} Des Weiteren können durch die Einführung von Carboxylgruppen

auch die Interaktionen mit dem P-gp (P-Glykoprotein)-Effluxtransportern beeinflusst werden. Beispiel hierfür ist das von dem H₁-Antihistaminikum Terfenadin (**4**) abgeleitete Fexofenadin (**5**) (Abbildung 1-4). Dabei zeigte **5** im Vergleich zu **4** eine verbesserte Löslichkeit und eine verringerte Permeabilität. Zusätzlich wurde festgestellt, dass **5** ein P-gp-Substrat ist.^{67, 68} Das zeigt, dass Carboxylgruppen nicht nur die Löslichkeit beeinflussen, sondern auch andere pharmakokinetische Parameter modulieren können.

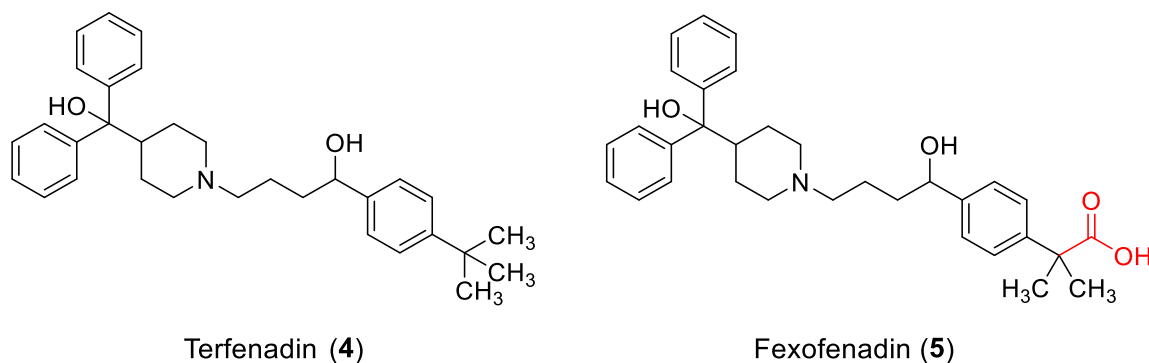


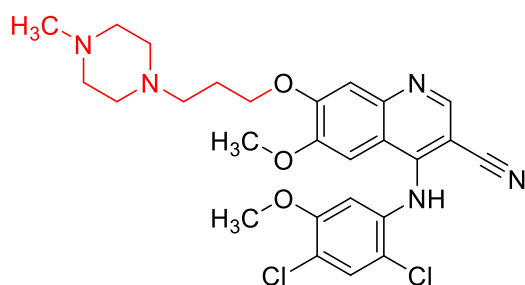
Abbildung 1-4: Verbesserung der Löslichkeit durch Einführung einer Carboxylgruppe (hervorgehoben in Rot) in **5**.

1.3.2 Basische Strukturelemente zur Löslichkeitsverbesserung

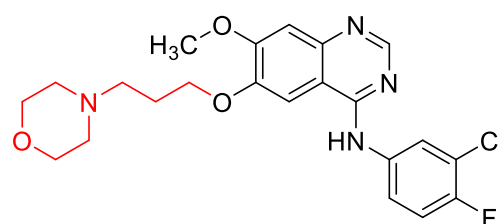
Verbindungen mit basischen Strukturelementen wie Guanidine, *N*-Heterozyklen oder aliphatische Amine (Abbildung 1-5)^{59, 69} nehmen Protonen auf und können bei einem physiologischen pH-Wert als Kationen in der Lösung vorliegen.⁶² Zwar wird durch basische Strukturelemente die Löslichkeit verbessert, jedoch werden auch die pharmakologischen Eigenschaften beeinflusst. Im Vergleich zu sauren Strukturelementen ist der modulierende Effekt auf den P-gp Effluxtransporter etwas schwächer ausgeprägt.^{61, 62} Obendrein wird bei stickstoffhaltigen organischen Basen häufig eine Inhibition des hERG-Kanals (engl. *human ether-a-go-go related gene*) beobachtet.^{61, 66}

Der hERG-Kanal stellt einen spannungsabhängigen Kaliumkanal am Herzen dar, welcher durch das hERG-Gen exprimiert wird. Eine Blockade führt zu einer Verlängerung der QT-Zeit im Elektrokardiogramm, die auf eine verzögerte Repolarisation der Herzmuskelzelle zurückzuführen ist.⁶⁶ Kardiale Arrhythmien bis hin zu *Torsade de Pointes*, einer Sonderform der ventrikulären Tachykardie,

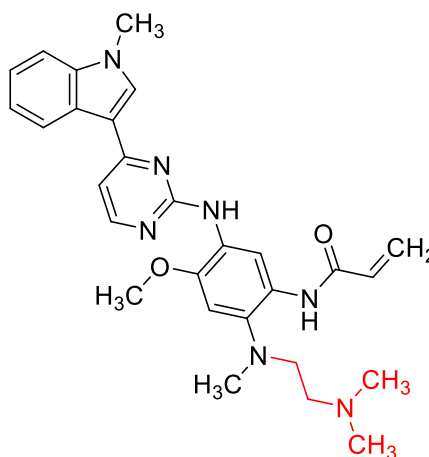
können bei einer Blockade des Kanals auftreten und fatale Folgen für den Patienten haben.⁷⁰ Saure und neutrale Strukturelemente können den hERG-Kanal ebenfalls inhibieren, jedoch ist die Wahrscheinlichkeit des Auftretens einer Inhibition durch Einführung von basischen Strukturelementen am höchsten. Daneben wird ein Zusammenhang zwischen der Lipophilie einer Verbindung und der Inhibition des hERG-Kanals betrachtet. Verbindungen mit einer geringen Lipophilie (niedriger clogP-Wert), aber mit basischen Strukturelementen, haben eine geringere Wahrscheinlichkeit den hERG-Kanal zu inhibieren ($IC_{50} > 10 \mu M$) als Verbindungen mit einem höheren clogP-Wert. Wegen der großen Bedeutung der unerwünschten kardialen Nebenwirkungen wird in der Wirkstoffentwicklung routinemäßig die Aktivität am hERG-Kanal untersucht.⁷⁰



Bosutinib (6)



Gefitinib (7a)



Osimertinib (8)

Abbildung 1-5: Kennzeichnung von basischen Strukturelementen (rot) in zugelassenen smKI.^{59, 69}

Basische Strukturelemente, die unter physiologischen Bedingungen positiv geladen sein können, binden reversibel an Phospholipide.⁷¹ Durch die Bindung

entstehen lamellare Einschlusskörper, die aus Phospholipiden, Überresten von Lysosomen und dem potentiellen Wirkstoff bestehen können und in den Zellen akkumulieren. Dieses Erscheinungsbild wird als Phospholipidose bezeichnet. Die Folgen einer Phospholipidose sind noch nicht gänzlich geklärt. Die damit einhergehende Toxizität wird vermutlich durch die Akkumulation des potentiellen Wirkstoffs in den Zellen hervorgerufen.⁷²

1.3.3 Neutrale Strukturelemente zur Löslichkeitsverbesserung

Neutrale Strukturelemente zeichnen sich dadurch aus, dass sie bei physiologischem pH-Wert ungeladen vorliegen oder nicht ionisierbar sind.⁶² Nachteile, die bei sauren oder basischen Strukturelementen auftreten, sind bei der Einführung von neutralen Strukturelemente gering bis kaum vorhanden.^{59, 61} Polyethylenglykol^{59, 73}, Ethylenglykol⁵⁹, Oxetanylsulfoxid-⁵⁸ oder eine Mesylpropoxypartialstruktur^{58, 74} können als neutrale löslichkeitsverbessernde Strukturelemente verwendet werden. Abbildung 1-6 enthält exemplarisch Verbindungen, bei denen durch Einbau von neutralen Strukturelementen eine Verbesserung der Löslichkeit hervorgerufen wurde. Darunter befinden sich drei Arzneistoffe. Neben dem Etofenamat (**11**), einem nichtsteroidalen Antirheumatikum, sind Erlotinib (**9**) und Naloxegol (**10**) aufgeführt.

Erlotinib (**9**), ein smKI gegen den epidermalen Wachstumsfaktor-Rezeptor, ist bei der Therapie des nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinoms indiziert und wird im BCS der Klasse II zugeordnet, welche für Arzneistoffe mit einer schlechten Löslichkeit, aber einer hohen Permeabilität steht.^{39, 75} Naloxegol (**10**) inhibiert den μ -Opiodrezeptor und wird zur Behandlung der Opioid-induzierten Obstipation eingesetzt. Das PEGylierte Naloxon führte zu einer höheren oralen Bioverfügbarkeit im Vergleich zum Naloxon. Zudem wurde eine verringerte Permeation in das zentrale Nervensystem festgestellt.⁷⁶

Neben den Ethylenglykol- oder Polyethylenglykolpartialstrukturen zur Löslichkeitsverbesserung wurde in Verbindung **13**, einem FFAR1-Agonist (engl. *free fatty acid receptor 1*), eine Mesylpropoxygruppe eingeführt. CHRISTIANSEN *et al.*⁷⁴ stellten dabei in ihren Untersuchungen fest, dass neben einer Reduzierung der Lipophilie auch die biologische Aktivität durch die Einführung einer Mesylpropoxygruppe erhalten blieb.

Eine Sulfoxidgruppe enthält auch die Verbindung **12**. Dabei wurde die Carboxygruppe von Naproxen, einem nichtsteroidalen Antirheumatikum, mit einer Oxetanylsulfoxidpartialstruktur verknüpft. Diese Strukturmodifikation führte im Vergleich zu Naproxen zu einer Löslichkeitsverbesserung um den Faktor 19.⁵⁸

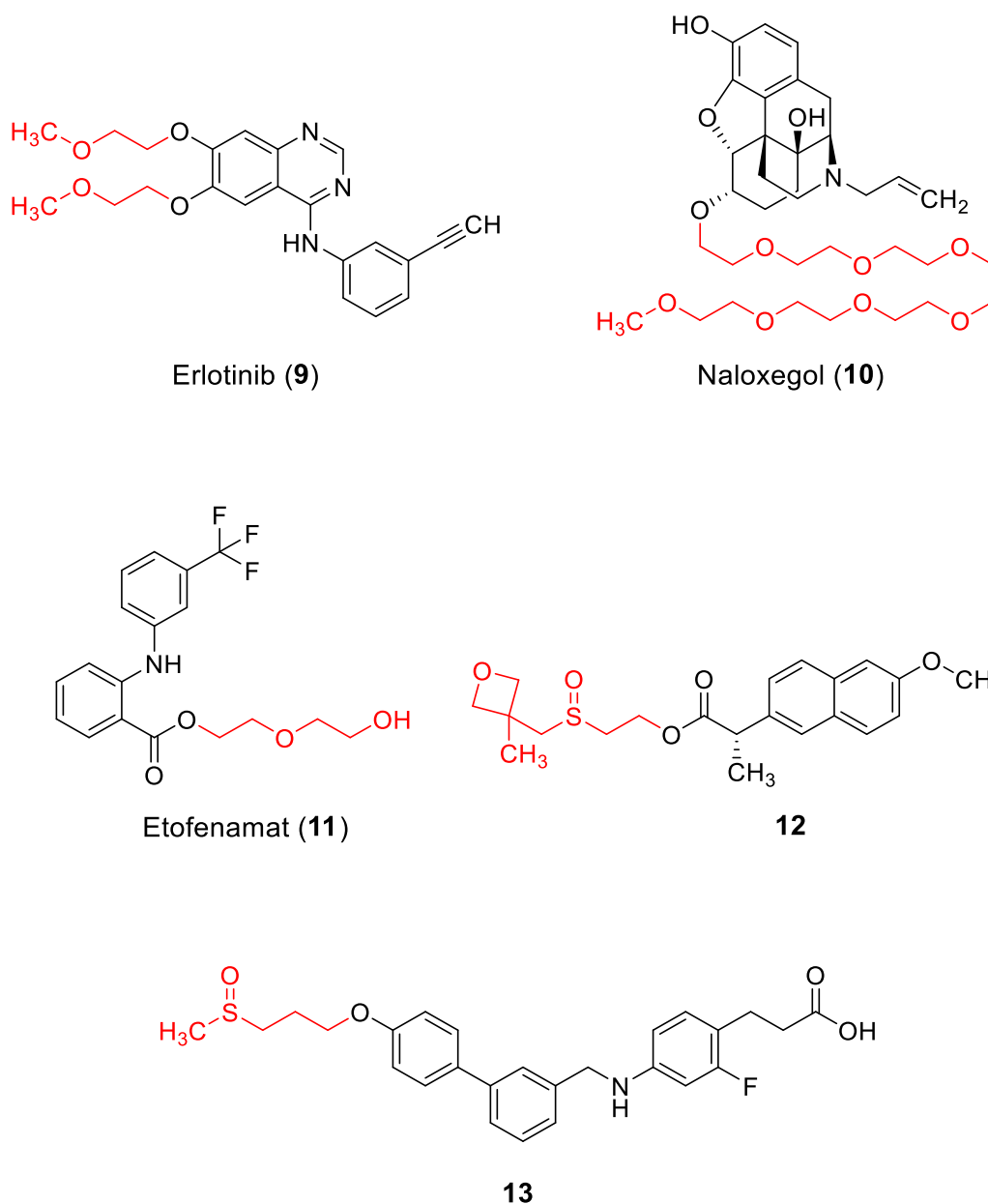


Abbildung 1-6: Beispiele für den Einbau von neutralen Strukturelementen (rot) in den Verbindungen **9–13**, die zu einer Löslichkeitsverbesserung führen.^{58, 59, 69, 74}

1.4 Die Sulfamidstruktur in Wirkstoffen

Sulfamide (**14**, R = H) sind Bioisostere von Carbamaten oder Sulfonamiden.⁷⁷ Die Bioisosterie bezeichnet den Austausch von Strukturelementen unter Erhalt der biologischen Aktivität. Ein solcher Austausch ermöglicht eine Steuerung der physikochemischen oder toxikologischen Eigenschaften einer Verbindung. Daneben kann die Selektivität gegenüber dem Target erhöht werden.⁷⁸ Die hohe Polarität und der Elektronenreichtum⁷⁷ der Sulfamidstruktur kann die Bioverfügbarkeit modifizieren und zusätzliche potentielle Interaktionspunkte mit den Targets ermöglichen. Weiterhin können Sulfamidstrukturen die Löslichkeit verbessern.⁷⁹

Verwendung finden Sulfamidstrukturelemente in potentiellen Wirkstoffen. Sie fungieren u. a. als Erkennungselement für die entsprechenden Targets.⁷⁷ Potentielle Wirkstoffe, die eine Sulfamidpartialstruktur beinhalten (Abbildung 1-7), verfügen beispielsweise über antibakterielle (**15**)⁷⁷, antikonvulsive (**16**)⁸⁰, antiallergische (**17**)⁸¹, dopaminerge (**18**)⁸² oder antivirale (**19**)⁸³ Eigenschaften.

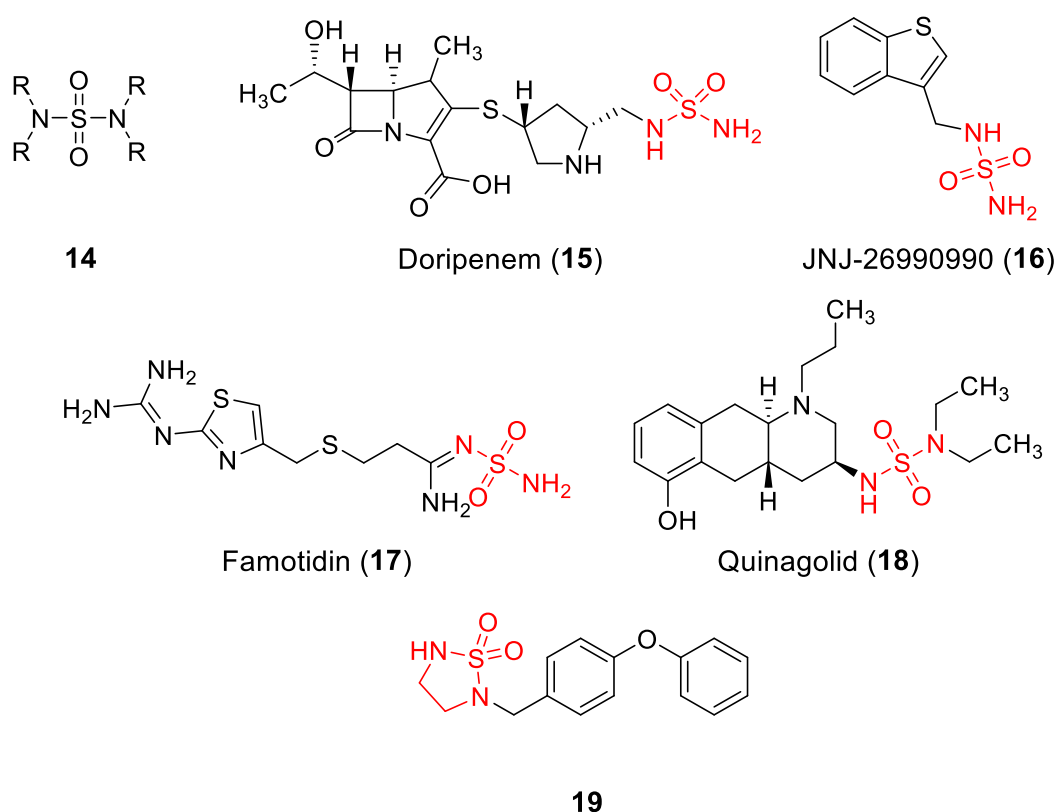


Abbildung 1-7: Das Sulfamid (**14**) kann unterschiedliche Substituenten (R) wie Wasserstoffatome oder Alkylgruppen am Stickstoffatom tragen. Sulfamidpartialstrukturen in den Wirkstoffen **15–19** sind in der Farbe Rot hervorgehoben.

1.5 Proteinkinasen

Mutationen, Überexpressionen und Deregulationen von Proteinkinasen sind an der Pathogenese von kardiovaskulären, neurologischen oder entzündlichen Erkrankungen und Krebs beteiligt.⁸⁴ Die Beteiligung der Proteinkinasen an einer Vielzahl von zellulären Prozessen wie der Differenzierung und Apoptose unterstreicht die Bedeutsamkeit ihrer Rolle in Eukaryoten.⁸⁵ Dabei katalysieren sie die Übertragung einer γ -Phosphatgruppe von einem Adenosintriphosphat-Nukleotid (ATP) auf die Hydroxygruppen der Aminosäuren Serin, Threonin oder Tyrosin des Substratproteins. Auf Grundlage der phosphorylierten Aminosäuren des Substratproteins werden die Proteinkinasen in Serin-, Threonin- und Tyrosinkinasen eingeteilt.^{84, 86}

Eukaryotische Proteinkinasen sind aus strukturell charakteristischen katalytischen Domänen aufgebaut, welche eine kleinere N-terminale Domäne und eine größere C-terminale Domäne besitzen.⁸⁷ Die β -Faltblattstrukturen mit antiparallelen Strängen dominieren den N-Terminus, der auch eine α C-Helix enthält. Der C-Terminus hingegen besteht vorwiegend aus α -helikalen Einheiten.⁸⁴ Die *hinge*-Region, eine kurze, flexible Aminosäuresequenz, verbindet beide Domänen, sodass eine Kavität entsteht (Abbildung 1-8).⁸⁸ Dieser Bereich stellt das aktive Zentrum, die ATP-Bindetasche der Kinase, dar. ATP bildet zu dieser Region, dem *backbone* der *hinge*-Region, Wasserstoffbrückenbindungen aus (*adenine region*). Der hintere Bereich der Bindetasche, welcher nicht durch ATP besetzt wird, zeichnet sich durch Hydrophobie aus. Die Größe und die Gestalt dieser sogenannten *backpocket* wird durch den *gatekeeper* (*gk*) reguliert. Der *gk* stellt die erste Aminosäure der *hinge*-Region dar. Bei Vorliegen von zum Beispiel Phenylalanin als *gk* liegt eine kleinere *backpocket* vor, wohingegen hinter Aminosäuren wie Threonin eine größere *backpocket* ausgebildet wird. Kenntnisse über den *gk* können somit beim Design potentieller Inhibitoren zur Optimierung der Selektivität berücksichtigt werden. Die *ribose pocket* ist benachbart zu einer hydrophilen, dem Lösemittel zugewandten Seite (*solvent accessible region*). Dieser Bereich ermöglicht das Einbringen von Strukturelementen in potentielle Proteinkinase-Inhibitoren, um die physikochemischen Eigenschaften wie die Löslichkeit zu verbessern, ohne die biologischen Eigenschaften zu beeinträchtigen. Im Bereich der *phosphate region* befindet sich eine flexible

glycinreiche Schleife (*G-loop*) in der N-terminalen Domäne mit der Aminosäuresequenz GxGxxG.^{89, 90} In der Wirkstoffoptimierung eignet sich die *phosphate pocket* zur Verbesserung der Selektivität oder der physikochemischen Eigenschaften, da diese Region zu der Lösemittel-zugewandten Seite ausgerichtet ist (Abbildung 1-9).⁸⁹

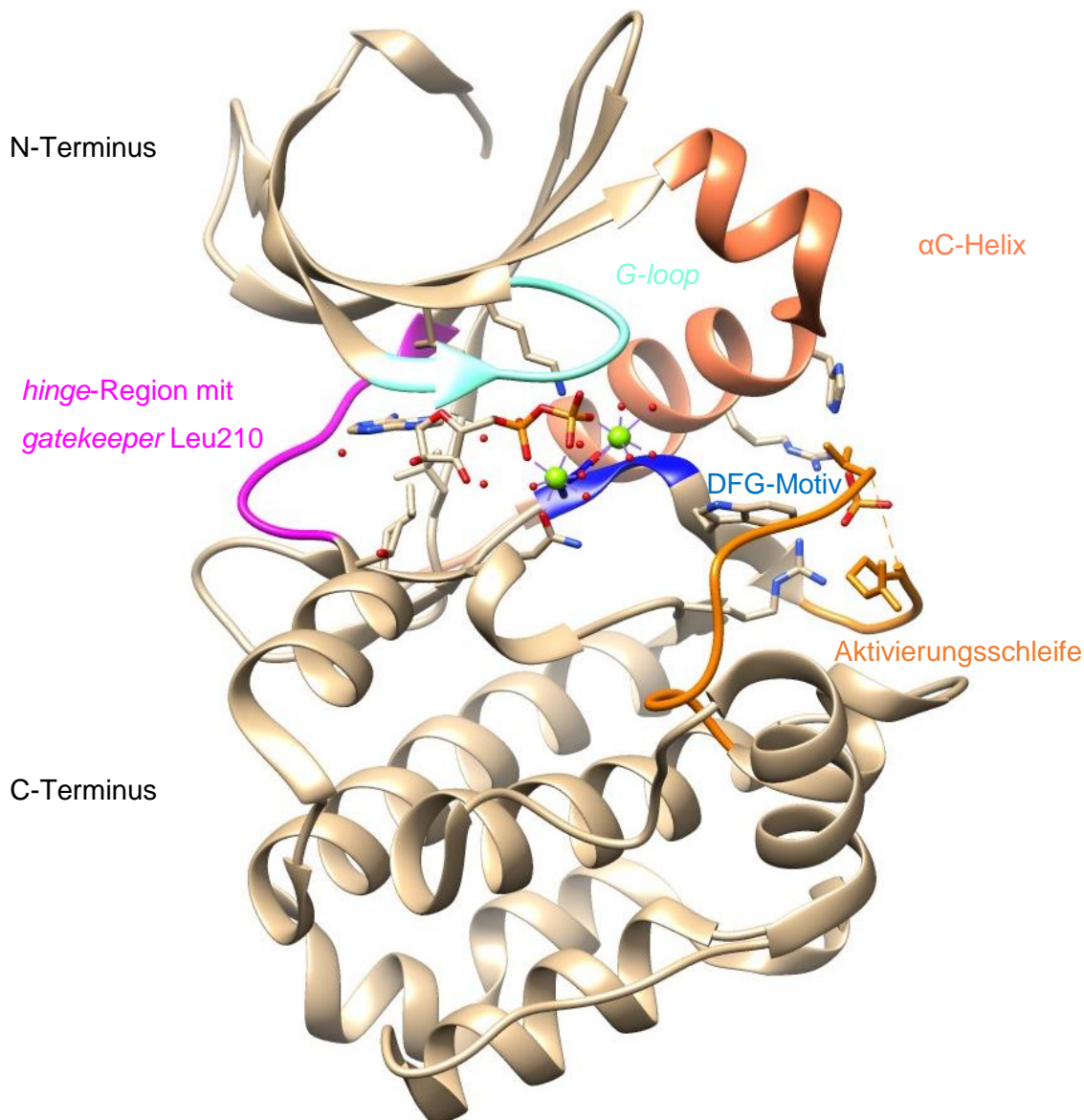


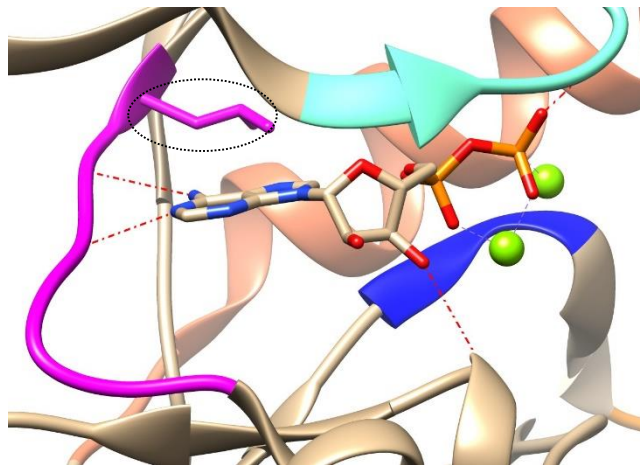
Abbildung 1-8: Aufbau der Aurora-Kinase A: Kokristallstruktur der Aurora-Kinase A mit ADP, zwei Magnesiumkationen (grün), Wassermolekülen (rot) und der Kennzeichnung charakteristischer Bereiche (PDB: 1MQ4).⁹¹

Am Anfang der Aktivierungsschleife in der C-terminalen Domäne bilden die Aminosäuren Asparaginsäure (D), Phenylalanin (F) und Glycin (G) das DFG-Motiv, welches die katalytische Aktivität der Proteinkinase durch Ausbildung

zweier unterschiedlicher Konformationen beeinflusst. Die Proteinkinase kann einen aktiven (DFG-*in*) und einen inaktiven (DFG-*out*) Zustand einnehmen. Beim DFG-*in* orientiert sich die Asparaginsäure zum ATP, sodass die Aktivierungsschleife in einer offenen Konformation vorliegt und eine Interaktion zwischen Asparaginsäure und den Magnesiumkationen ermöglicht. Die Magnesiumkationen wiederum sind an der Katalyse der Phosphatgruppenübertragung vom ATP auf das Substrat beteiligt. In der DFG-*out* Konformation kann die Asparaginsäure nicht mehr mit den Magnesiumkationen interagieren, sodass eine Bindung zum ATP blockiert wird.⁸⁶ Beim Wechsel vom aktiven in den inaktiven Zustand entsteht zusätzlich eine hydrophobe Region im hinteren Bereich der Bindetasche.

Die verschiedenen Konformationen können beim Design von Kinaseinhibitoren berücksichtigt werden. Kinaseinhibitoren vom Typ I befinden sich in der *adenine region* der Bindetasche und adressieren den aktiven Zustand der Kinase. Die Inhibitoren vom Typ II hingegen nutzen die hydrophobe Region der Bindetasche, die durch den inaktiven Zustand (DFG-*out*) der Kinase hervorgerufen wird.⁹²

A



B

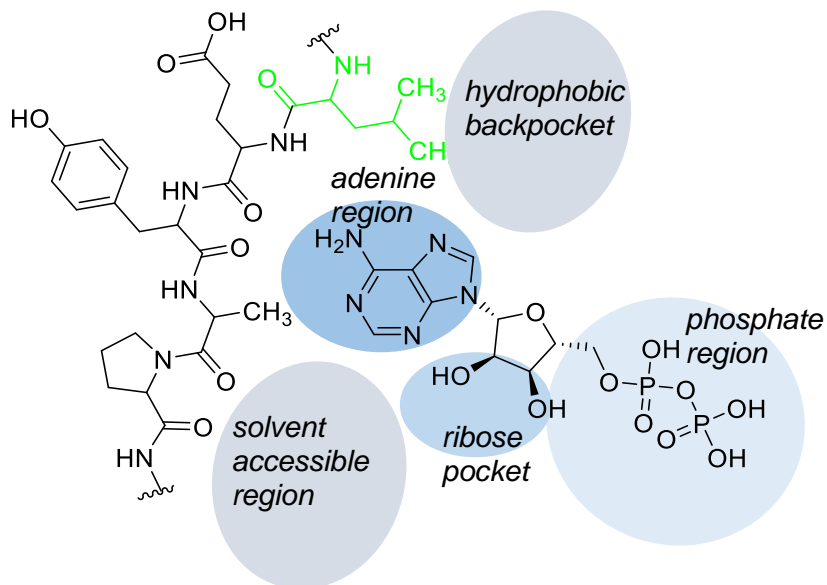


Abbildung 1-9: Die *hinge*-Region der Aurora-Kinase A (PDB: 1MQ4)⁹¹: **A** Aktiver Zustand der Kinase (DFG-*in*, blau) und intermolekulare Wechselwirkungen (rote Strichpunktlinie) zwischen dem Liganden ADP und der *hinge*-Region (magenta); *gatekeeper* Leu210 (kleine Ellipse). **B:** Zweidimensionale Darstellung der ATP-Bindetasche der Aurora-Kinase A (*gatekeeper* in grün) mit ADP modifiziert nach VULPETTI *et al.*⁹⁰

1.5.1 Aurora-Kinase

Die Aurora-Kinasen im menschlichen Organismus zeigen einen für Proteinkinasen typischen Aufbau in ihren C- und N-terminalen Domänen, welche über die *hinge*-Region miteinander verbunden sind. Sie werden den Serin-/Threoninkinasen zugeordnet und weisen eine hohe Sequenzähnlichkeit untereinander auf, wobei Unterschiede vor allem in der N-terminalen Domäne

lokalisiert sind. Daneben bestehen zwischen den Aurora-Kinasen Unterschiede im Expressionsmuster, der Lokalisation und der Funktionen.^{93–96}

Die Aurora-Kinasen haben regulierende Funktionen im Zellzyklus und sind u. a. am Aufbau des Spindelapparats und an der Teilung der Zellen, der sogenannten Cytokinese, beteiligt.^{93, 95} Die Nomenklatur der Aurora-Kinasen ist vielfältig, sodass im Folgenden die Bezeichnung Aurora-Kinase A, B und C verwendet wird.⁹⁷

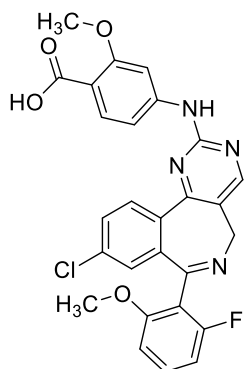
Die Aurora-Kinase A wird beim Menschen auf dem Chromosom 20 in der Region q13.2-q13.3 exprimiert.⁹⁷ Das Enzym ist u. a. auf den Centrosomen und an den Polen des Spindelapparats lokalisiert. Dies erklärt u. a. die Funktionen an den Centrosomen hinsichtlich der Trennung und Reifung, aber auch die regulativen Eingriffe beim Aufbau des Spindelapparats.⁹⁵ Die hohe Sequenzähnlichkeit zwischen der Aurora-Kinase A und der Aurora-Kinase B in ihrer Kinasedomäne kann dazu führen, dass Aurora-Kinase A sich ähnlich verhält wie Aurora-Kinase B. Dies konnte durch einen Austausch einer Aminosäure (Glycin 198 in Aurora-Kinase A gegen Asparagin 142 in Aurora-Kinase B) in der Kinasedomäne von Aurora-Kinase A gezeigt werden.⁹⁸

Auf dem Chromosom 17 in der Region p13.1 befindet sich das Gen für Aurora-Kinase B.⁹⁷ Diese Kinase stellt einen Bestandteil vom *chromosomal passenger complex* (CPC) dar und befindet sich u. a. an den Centromeren.^{93, 94} Zu diesem Komplex gehören noch das Survivin, Borealin und das *inner centromere protein* (INCENP). Aurora-Kinase B ist an der Regulation der Mitose beteiligt, indem sie beispielsweise die Kondensation bzw. die Orientierung der Chromosomen kontrolliert, fehlerhafte Verbindungen zwischen Chromosomen und Mikrotubuli korrigiert und den *spindle-assembly checkpoint* (SAC) prüft.^{93, 99}

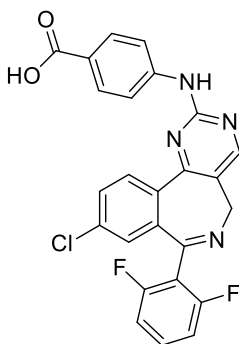
Während die Aurora-Kinasen A und B in somatischen Zellen aufzufinden sind, wird die Aurora-Kinase C, deren Gen beim Menschen auf dem Chromosom 19q13.43 lokalisiert ist⁹⁷, in hohem Maße in den Geschlechtszellen exprimiert. Aurora-Kinase C ist vor allem an der Meiose beteiligt. Es wird angenommen, dass ähnliche Funktionen wie bei der Aurora-Kinase B bestehen.¹⁰⁰

Beim Kolon- und Mammakarzinom konnte neben einer überhöhten Aktivität auch eine Überexpression der Aurora-Kinasen festgestellt werden.⁹⁹ Deshalb wurden

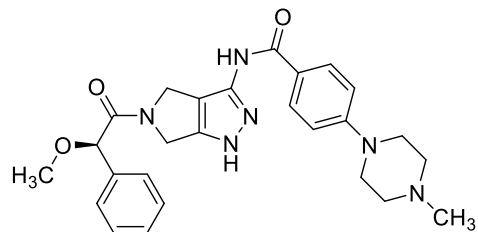
Inhibitoren der Aurora-Kinase entwickelt, die sich zurzeit als Antitumorwirkstoffe in der klinischen Prüfung befinden (Abbildung 1-10).^{99, 101}



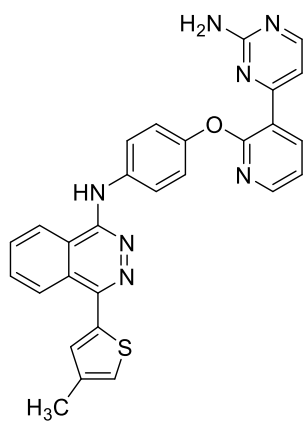
Alisertib (20)



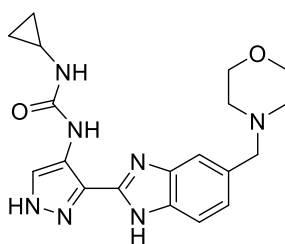
MLN8054 (21)



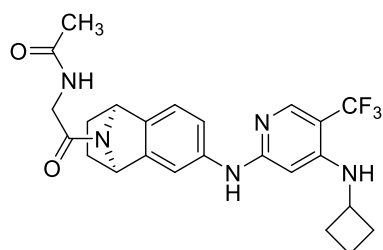
Danusertib (22)



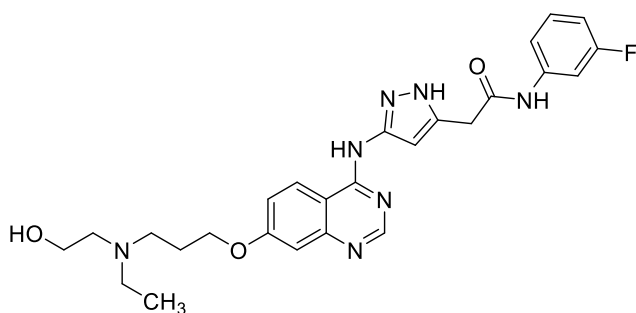
AMG900 (23)



AT9283 (24)



PF-03814735 (25)



Barasertib (26)

Abbildung 1-10: Eine Auswahl an Inhibitoren der Aurora-Kinasen (20–26), die sich in klinischen Studien befinden.^{99, 101}

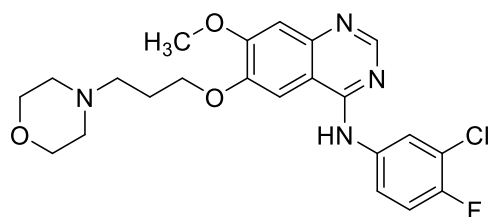
1.5.2 EGFR-Kinase

Der epidermale Wachstumsfaktor-Rezeptor (EGFR, engl. *epidermal growth factor receptor*) spielt eine wichtige Rolle bei der Entstehung von Bronchial- und Mammakarzinomen sowie Glioblastomen.¹⁰² Wenn der EGFR bei einer Krebsform überexprimiert oder überaktiv ist, stellt er ein attraktives Target für die Therapie dar.¹⁰³ Deshalb wurden neben einer Vielzahl von *small molecule kinase inhibitors* (smKI) auch monoklonale Antikörper wie das Cetuximab entwickelt, die gegen EGFR gerichtet und in der Therapie von Krebserkrankungen indiziert sind.^{102, 103}

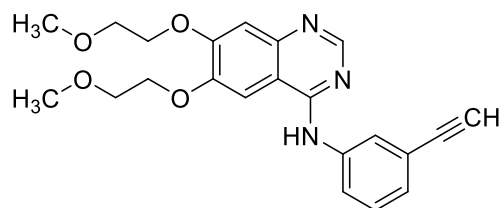
Der EGFR, auch ErbB1 oder HER1 (HER, engl. *human epidermal growth factor receptor*) genannt, ist eines von insgesamt vier Mitgliedern (ErbB2/HER2, ErbB3/HER3, ErbB4/HER4) der ErbB-Familie.¹⁰⁴ Diese transmembranären Glykoproteine¹⁰⁵ können u. a. in mesenchymalen und epithelialen Geweben exprimiert¹⁰⁶ und in drei Domänen gegliedert werden. Der N-Terminus befindet sich im Extrazellularraum und fungiert als Liganden-bindende Domäne, während der C-Terminus die Tyrosinkinasedomäne im Intrazellularraum darstellt. Zwischen den beiden Termini liegt eine hydrophobe transmembranäre Domäne vor.¹⁰⁵ Die EGFR-Aktivierung erfolgt über die Ligand-bindende Domäne, die über die Bindung mit zum Beispiel EGF, TGF- α (engl. *transforming growth factor alpha*) oder dem Betacellulin Homo- oder Heterodimere mit den jeweiligen Mitgliedern der ErbB-Familie bildet. Daraufhin tritt eine Aktivierung der Tyrosinkinasedomäne ein, wodurch die Tyrosinreste entlang der C-terminalen Domänen autophosphoryliert werden.^{102, 105} Somit können u. a. Adapter- und Signalproteine an die intrazelluläre Domäne binden und eine Kaskade von spezifischen Signalen auslösen. Hierbei werden v.a. die Signalwege der MAP-Kinase (engl. *mitogen-activated protein*), der Phosphoinositid-3-Kinase/Proteinkinase B (PI3K-AKT) und der JAK/STAT (engl. *Janus kinases/signal transducer and activator of transcription protein*) aktiviert.^{105, 107} Dadurch werden Funktionen der Zelle wie Proliferation, Apoptose und Zellmotilität beeinflusst.¹⁰⁷ Eine überhöhte Aktivität des EGFR, ausgelöst durch Überexpression oder Mutationen, kann zu Krebserkrankungen wie dem nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinom, dem Mamma- oder Kolonkarzinom führen.¹⁰³

Zur Therapie EGFR-abhängiger Tumorformen stehen u. a. die monoklonalen Antikörper wie das Cetuximab oder die Tyrosinkinase-Inhibitoren zur Verfügung.

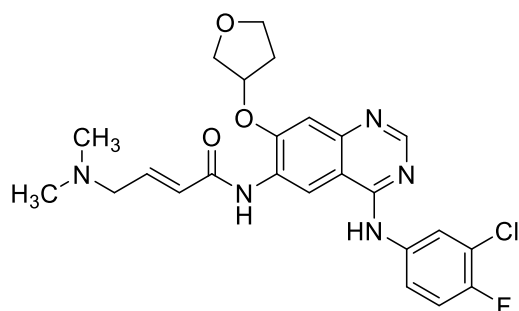
Während Erstere mit der extrazellulären Domäne vom EGFR interagieren, beeinflussen Letztere die Kinasedomäne.¹⁰⁷



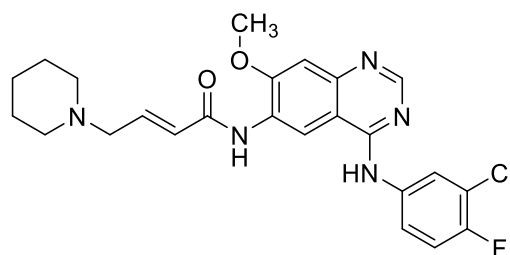
Gefitinib (7a)



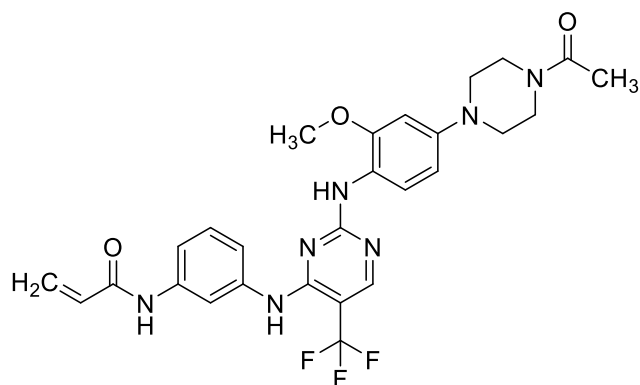
Erlotinib (9)



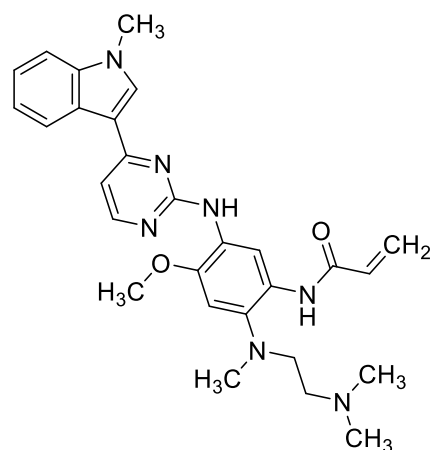
Afatinib (27)



Dacomitinib (28)



Rociletinib (29)



Osimertinib (8)

Abbildung 1-11: EGFR-Inhibitoren unterschiedlicher Generationen. Gefitinib (7a) und Erlotinib (9) sind Mitglieder der ersten Generation. Die zweite Generation wird repräsentiert durch Afatinib (27) und Dacomitinib (28). Rociletinib (29) und Osimertinib (8) sind EGFR-Inhibitoren der dritten Generation.¹⁰⁸

Als problematisch erweist sich die Resistenzentwicklung der eingesetzten Therapeutika, die entweder zu Therapiebeginn bereits besteht oder während der Therapie erworben wird. Durch Mutationen wie der Punktmutation an T790M, dem Austausch der *gatekeeper* Aminosäure Threonin gegen Methionin in EGFR oder der erhöhten Aktivierung von alternativen Signalwegen wie dem MET-Signalweg,

wird der Einsatz von EGFR-Inhibitoren wie den monoklonalen Antikörpern oder den Tyrosinkinase-Inhibitoren erschwert.¹⁰⁹

Durch Kombination von Wirkstoffen, wie bei dem gleichzeitigen Einsatz von Cetuximab und Afatinib (**27**, smKI), kann eine Krebserkrankung auch bei Vorliegen einer Resistenz behandelt werden.^{103, 109} Mittlerweile wurden mehrere Generationen an Tyrosinkinase-Inhibitoren mit dem Target EGFR entwickelt und einige auf den Markt gebracht (Abbildung 1-11).¹⁰⁸

Zu der ersten Generation zählen u. a. die reversiblen EGFR-Inhibitoren Gefitinib (**7a**) und Erlotinib (**9**). Indiziert sind sie beim nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinom, bei dem im EGFR-Gen eine Punktmutation L858R auf dem Exon 21 oder eine Deletion des Exons 19 vorliegt. Vertreter der zweiten Generation an EGFR-Inhibitoren wie Afatinib (**27**) und Dacomitinib (**28**) wurden entwickelt, um u. a. die Resistenzen der ersten Generation zu umgehen. Sie binden irreversibel an EGFR und an HER2, jedoch wurden auch in dieser Generation Resistenzen gegenüber der Mutation an T790M beobachtet. Weiterhin wurde eine erhöhte Toxizität festgestellt, die zur Entwicklung der dritten Generation der EGFR-Inhibitoren führte. Ein Beispiel hierfür ist das Osimertinib (**8**), welches irreversibel EGFR bindet, eine kovalente Bindung mit Cys797 eingeht und bei resistentem T790M EGFR eingesetzt werden kann. Auch Cys797 kann eine Punktmutation (C797S) aufweisen, die den Einsatz der dritten Generation der EGFR-Inhibitoren erschwert, da Cys797 essentiell für die Bindung an den Inhibitor ist. Mit der Kombination von EGFR-Inhibitoren der verschiedenen Generationen oder der Entwicklung neuerer Generationen an Tyrosinkinase-Inhibitoren wäre eine Bekämpfung der Resistenz möglich.^{110–112} Eine weitere Möglichkeit stellt die Kombination von EGFR-Inhibitoren der dritten Generation mit Inhibitoren der Aurora-Kinase A dar. SHAH *et al.*¹¹³ stellten in ihren Untersuchungen synergistische Effekte zwischen den Inhibitoren fest, die eine Behandlung von EGFR-resistenten Bronchialkarzinomen ermöglichten.

Tyrosinkinase-Inhibitoren weisen eine hohe Lipophilie (hohe clogP-Werte) auf, die im Hinblick auf ihre physikochemischen Eigenschaften, wie zum Beispiel die Löslichkeit, nachteilig sein kann (Tabelle 1-1).¹⁰¹

Tabelle 1-1: Angabe der clogP-Werte für EGFR-Inhibitoren mit Hilfe der SILICOS-IT-Vorhersage nach SwissADME.¹¹⁴

EGFR-Inhibitor	clogP
Gefitinib (7a)	4.31
Osimertinib (8)	2.95
Erlotinib (9)	4.06
Afatinib (27)	3.82
Dacomitinib (28)	4.39
Rociletinib (29)	3.05

1.6 Zielsetzung

Bei der Entwicklung potentieller Wirkstoffe werden neben den pharmakodynamischen Aspekten auch die pharmakokinetischen Aspekte berücksichtigt.⁴⁷ Proteinkinase-Inhibitoren weisen oft schlechte physikochemische Eigenschaften auf. Dazu gehört bei vielen Wirkstoffklassen eine schlechte Löslichkeit in wässrigen Medien, die sich ungünstig auf die Bioverfügbarkeit auswirken kann.⁴⁹ Durch rationales Wirkstoffdesign können schlecht lösliche Proteinkinase-Inhibitoren in ihrer Löslichkeit durch molekulare Abwandlung verbessert werden.⁵³ Im Rahmen dieser Arbeit sollten zur Verbesserung der Löslichkeit anknüpfbare kleine Strukturelemente entwickelt werden, die nicht ionisierbar sind, das sp^2/sp^3 -Verhältnis günstig beeinflussen und möglichst wenig zusätzliche Wasserstoffbrückendonatoren ins Molekül einbringen.

Diese Strukturelemente werden als *neutral solubility improving groups* (NeuSIGs) bezeichnet. Durch die Einführung von ionisierbaren Strukturelementen in Wirkstoffe resultieren Nachteile, beispielsweise bei basischen Gruppen die Wechselwirkung mit hERG oder bei sauren Gruppen eine hohe Plasmaproteinbindung. Diese Probleme können bei neutralen, nicht ionisierbaren Gruppen vermieden werden.^{59, 61} In diesem Sinne sollten hier *N*-alkylierte Sulfamide als neutrale Strukturelemente zur Verbesserung der Löslichkeit fungieren. Dabei wurden heterozyklische Verbindungen synthetisiert, da diese modulierende Eigenschaften auf die Polarität, biologische Aktivität oder die Löslichkeit haben können.¹¹⁵

Die NeuSIGs sollten in die von BERGER synthetisierten Anilinopyrimidine **30a–b**¹¹⁶ und in den EGFR-Inhibitor Gefitinib (**7a**) mit einer Anilinochinazolinstruktur eingebaut werden. Die Anilinopyrimidine **30a–b** zeigten eine inhibitorische Aktivität gegenüber der Aurora-Kinase A mit IC₅₀-Werten im mikromolaren Bereich (Abbildung 1-12). In Gefitinib (**7a**) ist ein Propylenlinker vorhanden, der auch bei den Anilinopyrimidinen **30a–b** zur Anknüpfung von verschiedenen Sulfamidpartialstrukturen (**14**) verwendet werden sollte. Durch die Einführung dieser NeuSIGs sollte weder die biologische Aktivität noch die chemische Stabilität von potenten Proteinkinase-Inhibitoren negativ beeinflusst werden.

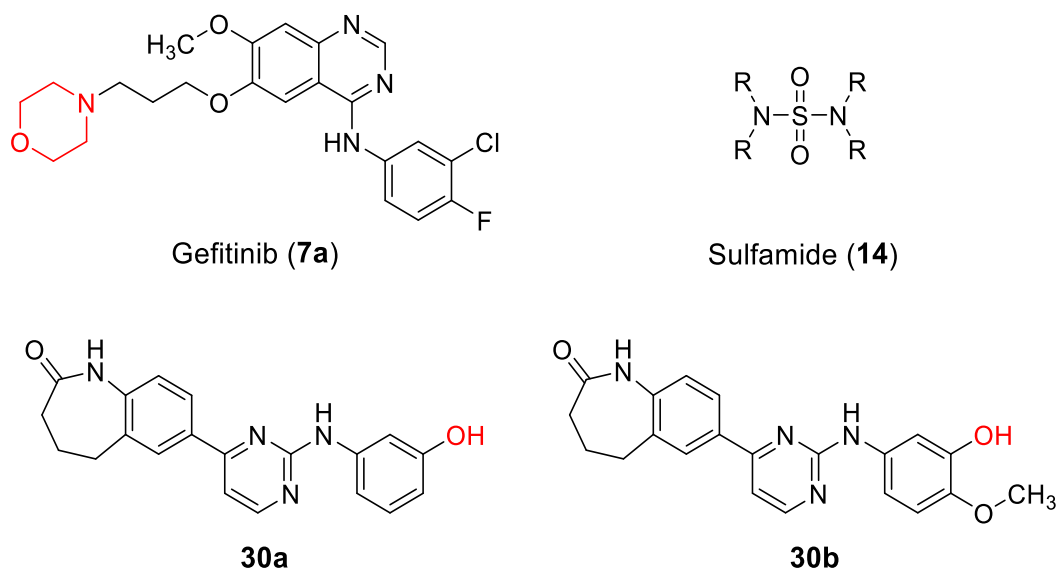


Abbildung 1-12: Einbau von Sulfamidpartialstrukturen (**14**, mit R = Wasserstoffatome oder Alkylgruppen) in das Anilinochinazolin **7a** und in die Anilinopyrimidine **30a–b**. In Rot markiert sind die Strukturelemente, die durch Sulfamidstrukturen ersetzt werden sollten bzw. die als Anknüpfungspositionen für NeuSIGs dienen sollten.

Auf Grundlage von *docking*-Untersuchungen sollten die Verknüpfungspunkte der NeuSIGs mit den Proteinkinase-Inhibitoren ermittelt werden. Dabei sollte der Einbau so erfolgen, dass die NeuSIGs entweder zur *solvent accessible region*, *phosphate region* oder dem *ribose pocket* innerhalb der ATP-Bindetasche der jeweiligen Proteinkinase ausgerichtet sind. Anschließend sollten die jeweiligen Verbindungen synthetisiert und hinsichtlich ihrer physikochemischen Eigenschaften, wie der Wasserlöslichkeit, untersucht werden. Im Vorfeld sollten die Verbindungen in ihren physikochemischen Eigenschaften wie dem logP- und

dem logS-Wert durch Anwendung von Modellen abgeschätzt werden. Die experimentell ermittelte thermodynamische und kinetische Löslichkeit sollten mit den vorhergesagten Löslichkeitswerten verglichen werden. Zudem sollten ausgewählte synthetisierte Verbindungen hinsichtlich ihrer kinaseinhibitorischen Aktivität bei dem Kooperationspartner (ProQinase GmbH, Freiburg, Deutschland) untersucht werden. Weiterhin sollte die Zytotoxizität (Arbeitskreis von Prof. Dr. Ingo Ott der Technischen Universität Braunschweig, Deutschland) ausgewählter synthetisierter Verbindungen bestimmt werden (Abbildung 1-13).

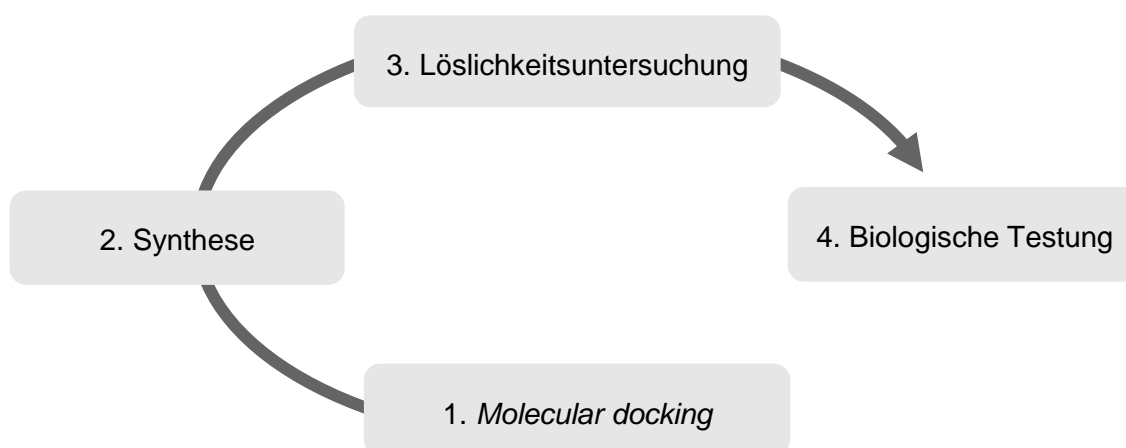


Abbildung 1-13: Vorgehensweise zur Verbesserung der physikochemischen Eigenschaften von Proteinkinase-Inhibitoren durch Einbau von NeuSIGs.

2 Strukturbasiertes computergestütztes Wirkstoffdesign

2.1 *Molecular docking*

In der Entwicklung potentieller Arzneistoffkandidaten werden, neben dem *hit to lead*-Prozess, die computergestützten Methoden im Rahmen des rationalen Wirkstoffdesigns zunehmend bedeutsam.¹¹⁷ Eine wichtige Rolle nimmt hierbei die Kenntnis der 3D-Struktur des Targets ein, die die Grundlage des strukturbasierten Ansatzes beim rationalen Wirkstoffdesign darstellt.¹¹⁸ Durch Kokristallstrukturen, welche in der PDB hinterlegt sind, können Wechselwirkungen zwischen Ligand und Protein und die Struktur der Bindetasche analysiert werden, sodass neue Liganden durch Strukturmodellierung entwickelt und optimiert werden können. Eine wichtige Methode zur Analyse der Bindetasche des Targets und dessen Wechselwirkung mit Liganden nimmt das *molecular docking* ein.^{18, 119}

Das *molecular docking* ist eine computergestützte Methode, bei der verschiedene Bindemodi des Liganden innerhalb der Bindetasche des Proteins generiert werden.¹⁸ Die Orientierung und die Konformation des Liganden in der ATP-Bindetasche des Targets werden im *docking* vorhergesagt. Verschiedene Posen werden durch das verwendete *docking*-Programm mit Hilfe einer *scoring function* bewertet. Dabei werden die jeweiligen Posen mit einem *score* versehen, der Wechselwirkungen zwischen dem Target und dem Liganden bewertet, sodass neben der Bindungsaffinität der Liganden auch deren räumliche Positionierung innerhalb der Bindetasche berücksichtigt wird. *Docking*-Studien ermöglichen den Entwurf sowie die Optimierung von Liganden, welche an die Bindetasche angepasst werden.¹¹⁹ Im Rahmen dieser Arbeit wurden *docking*-Studien mit dem Programm GOLD (engl. *Genetic Optimisation for Ligand Docking*) durchgeführt.¹²⁰ Ein genetischer Algorithmus, beruhend auf den Prinzipien der Evolutionstheorie, ermöglicht die Vorhersage der Position des Liganden in der Bindetasche.¹²¹ Mutation, Crossing-over und Migration werden als genetische Mechanismen in der Generierung verschiedener Bindemodi des Liganden in der Bindetasche betrachtet.^{121, 122} Zudem werden verschiedene Konformationen des Liganden in die Berechnungen miteinbezogen. Ausgehend von einer Initialpopulation, bei der verschiedene Posen des Liganden in der Bindetasche vorliegen (die sogenannten Chromosomen), werden die genetischen

Mechanismen angewendet. Diese Chromosomen beinhalten Informationen über die Konformationen des Proteins und des Liganden. Weiterhin werden zwischenmolekulare Interaktionen wie hydrophobe Wechselwirkungen berücksichtigt.^{121, 123} Innerhalb der Bindetasche ist eine Flexibilität des Liganden gegeben, während das Protein in seiner Beweglichkeit eingeschränkt sein kann.¹²¹ Der ständige Austausch von Informationen innerhalb der Population an Chromosomen ermöglicht auf Grundlage der Evolutionstheorie die Selektion der besten Chromosomen. Dabei wird nach jedem genetischen Mechanismus die *fitness* der Chromosomen mit einer Energiefunktion bewertet. So werden beispielsweise Wasserstoffbrückenbindungen, die innere Energie des Liganden und die sterischen Einflüsse der vorhergesagten Pose des Liganden innerhalb der Bindetasche betrachtet. Aus dem Pool an Chromosomen werden die besten Chromosomen selektiert und optimiert.^{121, 123} Die erhaltenen Posen werden hinsichtlich der Bindungsaffinität in ihrer *fitness*, welche durch verschiedene *scoring functions*, die in GOLD implementiert sind, bewertet.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden die *docking*-Posen mit der *fitness*-Funktion *ChemScore* evaluiert, welche spezifische Parameter (*kinase template*) für Proteinkinasen beinhaltet. Neben den zuvor genannten Parametern in der *fitness*-Funktion werden auch die Atomradien, Polarisierbarkeit, Torsionspotentiale und Wechselwirkungen mit Metallionen herangezogen.¹²⁴ Außerdem werden schwache Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den CH-Atomen von zum Beispiel stickstoffhaltigen heterozyklischen Verbindungen mit Sauerstoffatomen der Aminosäuren in Betracht gezogen, die bei Proteinkinase-Inhibitoren auftreten können.^{124, 125} Der *ChemScore*-Wert, der für die jeweiligen Posen des Liganden innerhalb der Bindetasche erhalten wird, beachtet auch den sogenannten *penalty*. Hierbei werden u. a. die Oberflächen des Liganden und des betrachteten Proteins auf Kollisionen (*clashes*) untersucht. Auch die Torsionswinkel und *constraints*, mit denen u. a. ein Einfluss auf Wasserstoffbrückenbindungen zwischen Ligand und Protein ausgeübt werden kann, werden im erhaltenen *ChemScore*-Wert betrachtet. Nach Beendigung des *docking*-Vorganges werden die erhaltenen Bindeposen nach ihrem *score* aufsteigend tabellarisch geordnet (*ranking*). Beim *molecular docking* werden zudem noch Wassermoleküle berücksichtigt, da Wasser-vermittelte

Wasserstoffbrückenbindungen zwischen Ligand und Protein ausgebildet werden können. Die *toggle*-Funktion in GOLD ermöglicht ein Ein- und Ausschalten der Wassermoleküle. Hierbei werden Wassermoleküle von GOLD in die Berechnung des *ChemScore*-Werts miteinbezogen, falls diese für die Ausbildung der jeweiligen Pose erforderlich sind. Die Verwendung von Wassermolekülen für die jeweilige Bindepose wird durch GOLD während des *docking*-Vorgangs bestimmt.¹²⁴

Vor den *docking*-Untersuchungen wird die Eignung von GOLD durch *redocking*-Untersuchungen überprüft. Der Ligand wird aus der Kokristallstruktur entfernt und in die ATP-Bindetasche derselben Kristallstruktur gedockt. Anschließend erfolgt ein Vergleich zwischen den Bindeposen der Liganden in der Bindetasche des Proteins, welche in der Kokristallstruktur vorliegen, mit denen, die durch das *docking*-Programm erzeugt wurden. Dabei wird die Wurzel der quadrierten mittleren Abstände der jeweiligen Atomkoordinaten berechnet.^{126, 127} Dieser spiegelt sich im RMSD-Wert (engl. *root mean square deviation*) wider, welcher von GOLD berechnet wird und somit eine Evaluierung der Bindeposen ermöglicht. Ein RMSD-Wert von kleiner als 2.0 Å wird angestrebt.¹²⁷

Die Visualisierung der *docking*-Ergebnisse erfolgte in der hier vorgelegten Arbeit mit UCSF Chimera.¹²⁸

2.2 Bindemodi ausgewählter Inhibitoren der Aurora-Kinase A

Eine Vielzahl von Kokristallstrukturen der Aurora-Kinase A mit entsprechenden Liganden sind in der PDB hinterlegt. Die Analyse der ATP-Bindetasche und der Posen der gebundenen Liganden zeigt charakteristische Bindemodi und Wechselwirkungen. Als Liganden sind u. a. Inhibitoren der Aurora-Kinase A beschrieben, die sich in klinischen Studien befinden wie MLN8054 (**21**) und Danusertib (**22**).

2.2.1 MLN8054

Drei Kokristallstrukturen von MLN8054 (**21**) in der ATP-Bindetasche der Aurora-Kinase A sind in der PDB hinterlegt.^{129, 130} Sie zeigen untereinander ähnliche Bindemodi und Wechselwirkungsmotive innerhalb der ATP-Bindetasche.

In Abbildung 2-1 ist exemplarisch die von DODSON *et al.*¹²⁹ publizierte Kokristallstruktur dargestellt.

Die aromatischen Ringe liegen hierbei relativ flach in der ATP-Bindetasche und zeigen hydrophobe Wechselwirkungen mit unpolaren Aminosäuren wie Leu210 (*gk*) und Leu263. Weiterhin kann eine CH-Wechselwirkung zwischen dem *N*-Heterozyklus Pyrimidin und dem Sauerstoffatom des *backbones* von Glu211 (*gk*+1) festgestellt werden. Daneben bilden sich zur *hinge*-Region zwischen dem anilinischen Stickstoffatom und der Carbonylgruppe von Ala213 (*gk*+3) bzw. dem Stickstoffatom der Pyrimidinpartialstruktur und Ala213 Wasserstoffbrückenbindungen aus. Die Carboxylgruppe ist dem Lösemittel zugewandt, sodass Wechselwirkungen zu Wassermolekülen möglich wären.

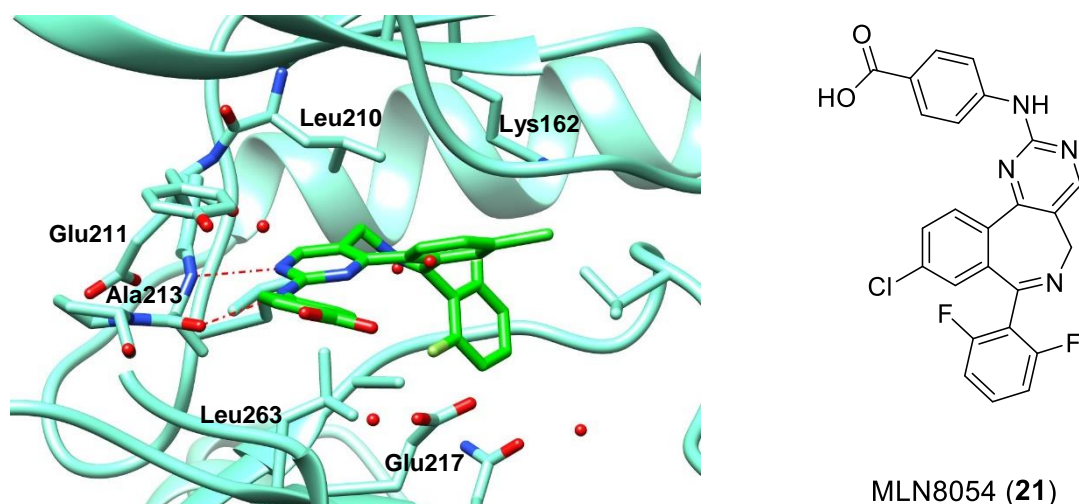


Abbildung 2-1: ATP-Bindetasche der Kokristallstruktur von MLN8054 (**21**, grün) mit der Aurora-Kinase A (PDB: 2WTV, aquamarin).¹²⁹ Neben den zwei Wasserstoffbrückenbindungen zur *hinge*-Region (Ala213, *gk*+3) sind hydrophobe Wechselwirkungen zwischen den aromatischen Ringen mit unpolaren Aminosäuren vorhanden. Letztere und CH-Wechselwirkungen werden hier zur Wahrung der Übersicht nicht dargestellt. Wasserstoffbrückenbindungen werden in roten Strichpunktlinien dargestellt.

2.2.2 Danusertib

Die Bindungsmotive und die räumliche Orientierung von **21** und Danusertib (**22**) innerhalb der ATP-Bindetasche der Aurora-Kinase A ähneln sich. Der Ligand liegt relativ flach in der ATP-Bindetasche. Neben den hydrophoben Wechselwirkungen können auch Wasserstoffbrückenbindungen festgestellt werden. Dabei interagieren die zwei Stickstoffatome der Pyrazolpartialstruktur mit der *hinge*-Region und bilden Wasserstoffbrückenbindungen zu Glu211 (*gk*+1) und

Ala213 (*gk+3*) aus. Die Wasserstoffbrückenbindungen zu Lys162 werden über die Sauerstoffatome der Methoxy- und der Carbonylgruppe einer Carbonsäureamidpartialstruktur ausgebildet. Das *N*-Methylpiperazin zeigt zu der Lösemittel-zugewandten Seite, sodass Wechselwirkungen mit Wassermolekülen der umgebenden Lösung möglich wären (Abbildung 2-2). Eine Verbesserung der physikochemischen Eigenschaften des Liganden durch Einführung von Substituenten an dieser Position erscheint denkbar.

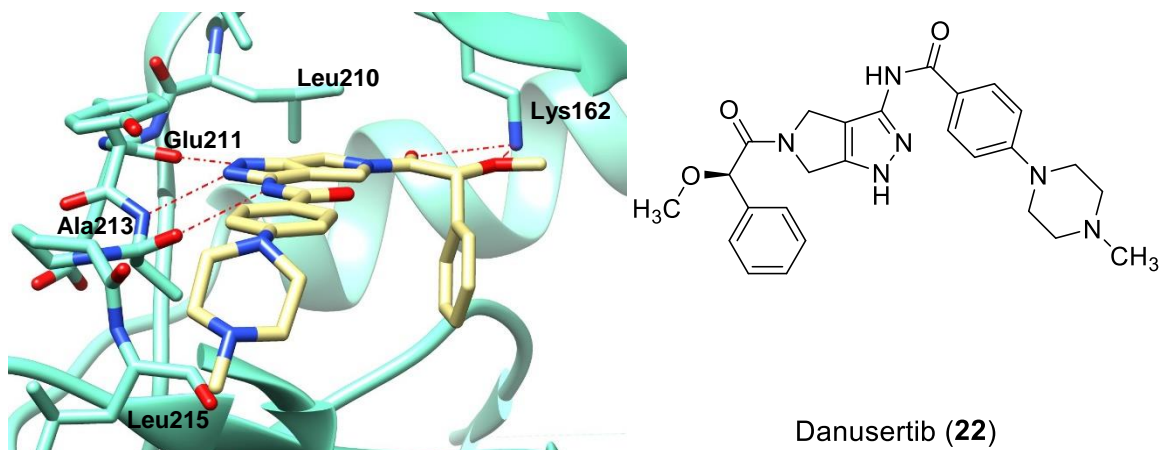


Abbildung 2-2: Kokristallstruktur von Danusertib (**22**, khaki) in der ATP-Bindetasche der Aurora-Kinase A (PDB: 2J50, aquamarin).¹³¹ Neben den hydrophoben Wechselwirkungen können Wasserstoffbrückenbindungen zur *hinge*-Region (Glu211 und Ala213) und zur Aminosäure Lys162 identifiziert werden. Wasserstoffbrückenbindungen werden in roten Strichpunktlinien dargestellt.

2.3 Bindemodi von Anilinopyrimidinen

2.3.1 Redocking

Der Ligand (**21**) der Kokristallstruktur der Aurora-Kinase A von DODSON *et al.* (PDB: 2WTV)¹²⁹ verfügt über eine Anilinopyrimidinpartialstruktur. Dieses Strukturelement ist auch in den Verbindungen von BERGER (**30c–d**)¹³² enthalten (Abbildung 2-3), weshalb für die *docking*-Studien eine der Ketten aus der tetrameren Kokristallstruktur 2WTV verwendet wurde.¹²⁹ Redocking-Experimente mit dem Liganden **21** ergaben mit dem sehr niedrigen RMSD-Wert von 0.474 Å ein sehr gutes Ergebnis. Kokristallisierte Wassermoleküle wurden bei diesen Untersuchungen berücksichtigt.

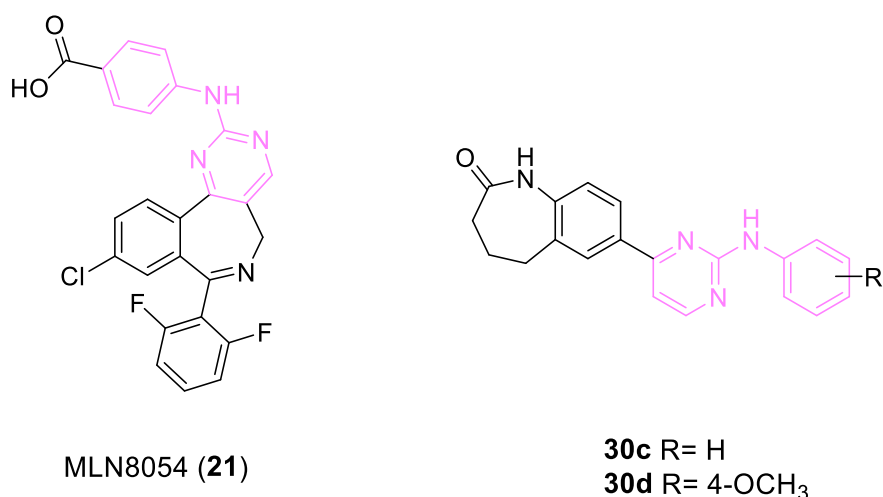


Abbildung 2-3: Farbliche (rosa) Hervorhebung der Anilinopyrimidinpartialstrukturen von MLN8054 (**21**) und **30c–d**.

Auch eine Nichtberücksichtigung der Wassermoleküle führte zu Bindeposen ähnlich zur experimentell ermittelten Kokristallstruktur (RMSD = 0.848 Å). Der RMSD-Wert war hierbei um den Faktor 2 größer, als unter der Berücksichtigung der Wassermoleküle (Abbildung 2-4). Wassermoleküle sollten beim *molecular docking* berücksichtigt werden, da sie u. a. eine Vermittlungsfunktion bei den Wechselwirkungen zwischen Protein und Ligand einnehmen können. Hierbei kann der Ligand über die Wechselwirkung mit Wasser mit dem Protein interagieren.¹³³ Daher wurden im Folgenden die Wassermoleküle in der Kokristallstruktur bei *docking*-Untersuchungen berücksichtigt.

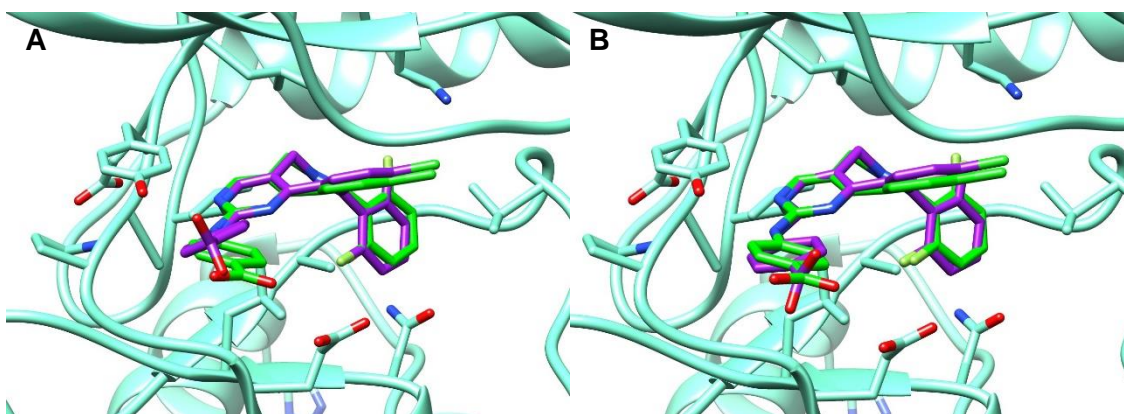


Abbildung 2-4: Kokristallstruktur von **21** (grün) und gedocktem **21** (lila) in der ATP-Bindetasche der Aurora-Kinase A (PDB: 2WTV, aquamarin).¹²⁹ **A:** Ohne Berücksichtigung der Wassermoleküle mit einem RMSD-Wert von 0.848 Å. **B:** Unter Einschluss der Wassermoleküle mit einem RMSD-Wert von 0.474 Å.

Die von GOLD erzeugten Bindeposen wurden hinsichtlich ihrer Plausibilität in der ATP-Bindetasche und der zwischenmolekularen Wechselwirkungen evaluiert. Wasserstoffbrückenbindungen stellen besonders wichtige Interaktionen zwischen Ligand und Protein dar. Eine Wasserstoffbrückenbindung besteht zwischen zwei Atomen, einem Donoratom (D) und einem Akzeptoratom (A). Am Donoratom ist ein Wasserstoffatom kovalent gebunden, welches eine zwischenmolekulare Wechselwirkung zum Akzeptoratom eingeht.^{134, 135} Der Abstand zwischen dem Donoratom und dem gebundenen Wasserstoffatom (D-H) beträgt üblicherweise 1 Å. Der Abstand des Wasserstoffatoms vom Donor (D-H) zu einem Akzeptoratom liegt zwischen 1.7 – 2.0 Å (D-H...A), sodass der gesamte Abstand zwischen Donoratom und Akzeptoratom (D---A) 2.7 – 3.0 Å beträgt. Dies entspricht einer schwachen Wasserstoffbrückenbindung. Je nach Donor- bzw. Akzeptoratom können die Abstände geringer sein. Bei der Einteilung der Wasserstoffbrückenbindungen wird der Gesamtabstand zwischen D und A berücksichtigt. Man kann zwischen sehr starken (D---A = 2.3 – 2.45 Å), starken (D---A = 2.5 – 2.6 Å) und schwachen (D---A = 2.7 – 3.0 Å) Wasserstoffbrückenbindungen unterscheiden.¹³⁶ Zusätzlich sollten die Wasserstoffbrücken einen D-H...A-Winkel nahe 180 ° aufweisen. Bei einem D-H...A-Winkel nahe 180 ° würde eine starke Wasserstoffbrückenbindung vorliegen.¹³⁵

Die *docking*-Experimente wurden zunächst mit den Anilinopyrimidinen **30a** und **30b** und der Proteinstruktur 2WTV der Aurora-Kinase A durchgeführt.¹²⁹

Bei beiden Verbindungen konnten ähnliche Bindeposen festgestellt werden. Daher werden exemplarisch die am besten bewerteten Orientierungen von **30a** mit dem von GOLD ermittelten höchsten *ChemScore* erläutert (Abbildung 2-5). Ohne vorgegebene Wasserstoffbrückenbindungen (*constraints*) zu den Aminosäuren der *hinge*-Region der Aurora-Kinase A, bildet das Stickstoffatom der Benzazepin-2-onpartialstruktur mit der Carbonylgruppe von Ala213 (*gk*+3) eine schwache Wasserstoffbrückenbindung ($D\cdots A = 2.71 \text{ \AA}$, *ChemScore* = 40.82) aus. Daneben bildet sich zusätzlich eine schwache Wasserstoffbrückenbindung zwischen der Hydroxygruppe von **30a** und der Aminosäure Glu260 ($D\cdots A = 2.84 \text{ \AA}$) aus. Diese Hydroxygruppe ist zur Lösemittel-zugewandten Seite orientiert. Dies würde eine Einführung von löslichkeitsverbessernden Gruppen ermöglichen, ohne dabei die Wechselwirkungen mit der *hinge*-Region zu beeinflussen. In dieser Orientierung konnten hydrophobe Wechselwirkungen zwischen den aromatischen Ringen und den Aminosäuren Leu139, Gly140 und Val279 beobachtet werden. Während die Benzazepin-2-on- und die Pyrimidinpartialstrukturen relativ flach in der ATP-Bindetasche liegen, ist die Anilinpartialstruktur zu diesen gewinkelt angeordnet. Die Kokristallstruktur von MLN8054 (**21**) in der Aurora-Kinase A zeigt, dass die Anilinopyrimidinpartialstruktur zur *hinge*-Region orientiert ist und Wasserstoffbrückenbindungen mit den Aminosäuren Glu211 und Ala213 ausbildet (Abbildung 2-5: A und C). Die oben beschriebene Pose von **30a**, die durch *docking*-Experimente ohne *constraints* erzeugt wurde, unterscheidet sich grundlegend von der Orientierung der sehr ähnlichen Verbindung MLN8054 (**21**) in der PDB-Struktur 2WTV. Daher wurde bei weiteren *docking*-Untersuchungen eine Wasserstoffbrückenbindung (*constraint*) zwischen der anilinischen NH-Gruppe aller untersuchter Anilinopyrimidine **30a–b** und der Carbonylgruppe von Ala213 in GOLD definiert. Exemplarisch wird hier der Bindemodus von **30a** mit dem höchsten *ChemScore* erläutert (Abbildung 2-5: B und D). Das Molekül liegt relativ flach in der ATP-Bindetasche der Aurora-Kinase A (*ChemScore* = 38.69). Die Anilinopyrimidinpartialstruktur ist zur *hinge*-Region orientiert, in der die Hydroxygruppe zum Lösemittel ausgerichtet ist. Währenddessen füllt die Benzazepin-2-onpartialstruktur den hinteren Teil der Bindetasche, die hydrophobe Region, aus. Neben den hydrophoben Wechselwirkungen zwischen dem Liganden und den Aminosäuren Leu139 und Val279 bilden sich auch Wasserstoffbrückenbindungen aus. Hierbei interagiert die

Anilinopyrimidinpartialstruktur mit der *hinge*-Region über drei Wasserstoffbrückenbindungen.

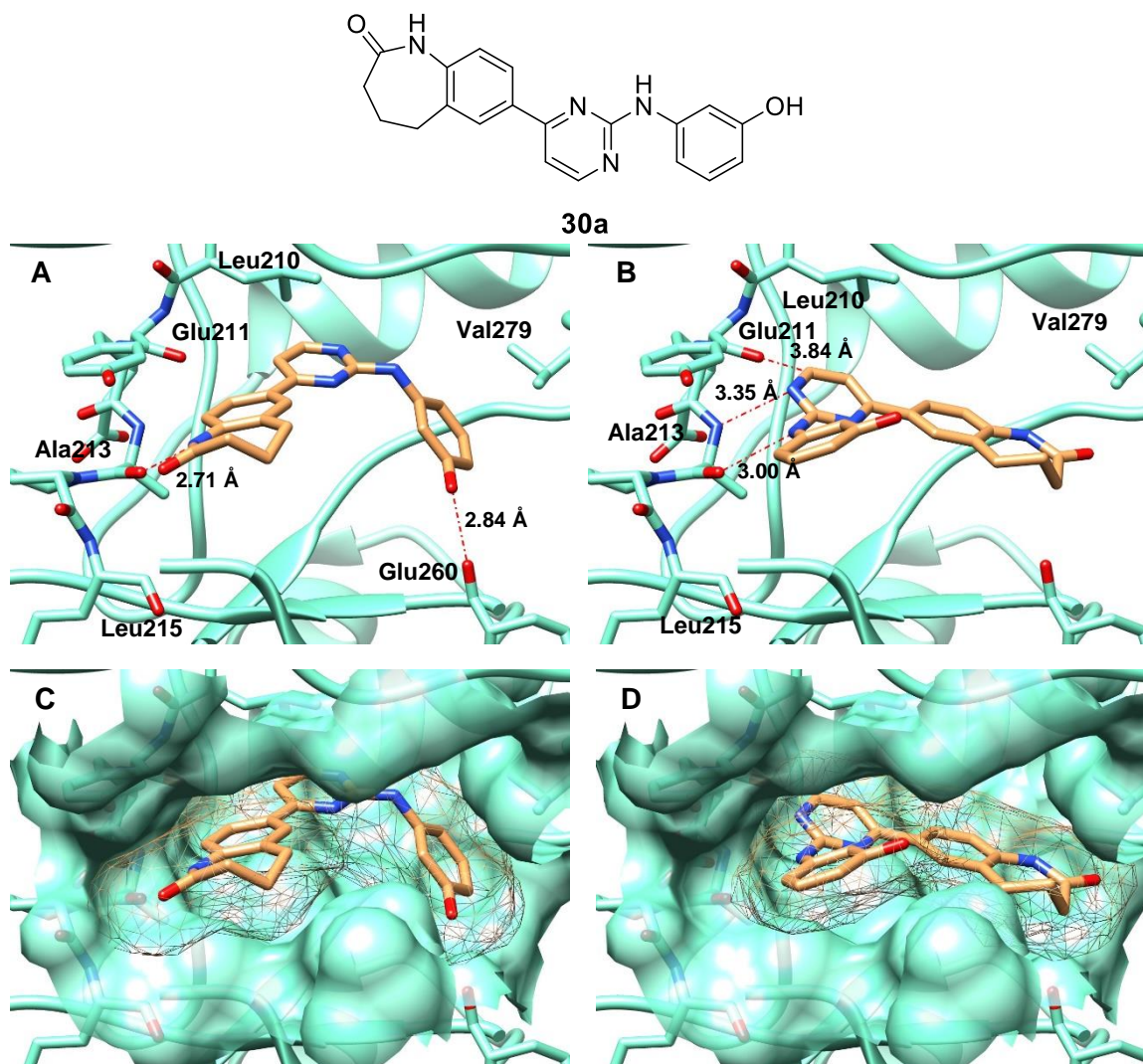


Abbildung 2-5: Zwei unterschiedliche durch *docking*-Experimente vorhergesagte Bindemodi von **30a** (sandbraun) in der ATP-Bindetasche der Aurora-Kinase A (PDB: 2WTV, aquamarin).¹²⁹ Links: ohne Anwendung von *constraints*; Rechts: nach Definition von *constraints* in Form von Wasserstoffbrücken zwischen *hinge*-Region und der Anilinopyrimidinpartialstruktur des Liganden. Wasserstoffbrückenbindungen werden in roten Strichpunktlinien dargestellt. **A:** Das Wasserstoffatom vom Stickstoffatom des Lactamrings interagiert über eine schwache Wasserstoffbrückenbindung ($D\cdots A = 2.71 \text{ \AA}$) mit Ala213 (*gk+3*). Zusätzlich wird eine schwache Wasserstoffbrückenbindung ($D\cdots A = 2.84 \text{ \AA}$) der Hydroxygruppe von **30a** mit Glu260 ausgebildet. *Constraints* wurden nicht definiert. **B:** Zwischen dem Stickstoffatom der Anilinpartialstruktur von **30a** und der Carbonylgruppe von Ala213 (*gk+3*) wurden *constraints* definiert. Eine schwache Wasserstoffbrückenbindung ($D\cdots A = 3.00 \text{ \AA}$) wurde hierbei ausgebildet. Daneben bilden sich zwei weitere sehr schwache Wasserstoffbrückenbindungen zwischen der *hinge*-Region (Ala213 und Glu211) und **30a** aus. **C:** Darstellung der Oberfläche der ATP-Bindetasche und des Liganden. Die Anilinopyrimidinpartialstruktur füllt die *phosphate region* aus. Die Hydroxygruppe ist dem Lösemittel zugewandt. **D:** Oberflächendarstellung der Bindetasche, in der für **30a** *constraints* (siehe **B**) definiert wurden. Die Hydroxygruppe ist dem Lösemittel zugewandt, während die Benzazepin-2-onpartialstruktur die hydrophobe Region und die *phosphate region* ausfüllt.

Neben einer schwachen Wasserstoffbrückenbindung ($D \cdots A = 3.00 \text{ \AA}$) zwischen der NH-Gruppe der Anilinpartialstruktur und der Carbonylgruppe von Ala213 konnten sehr schwache Wasserstoffbrücken zwischen dem Pyrimidinstickstoffatom von **30a** und der NH-Gruppe von Ala213 ($D \cdots A = 3.35 \text{ \AA}$) bzw. der CH-Gruppe des Pyrimidins mit der Carbonylgruppe von Glu211 ($D \cdots A = 3.84 \text{ \AA}$) festgestellt werden.

Festzuhalten ist, dass die von GOLD ermittelten Bindeposen der Anilinopyrimidine in der ATP-Bindetasche der Aurora-Kinase A mit und ohne *constraints* zu unterschiedlichen Ergebnissen führten. Während ohne *constraints* die Benzazepin-2-onpartialstruktur zur *hinge*-Region orientiert ist, zeigt sich eine Drehung des Liganden bei der Definition von *constraints*. Dabei füllt das Benzazepin-2-on die hydrophobe Region der Bindetasche aus und die Anilinopyrimidinpartialstruktur von **30a** interagiert über Wasserstoffbrückenbindungen mit der *hinge*-Region. Beide Bindeposen zeigen jedoch, dass die Hydroxygruppe von **30a** zu der dem Lösemittel zugewandten Seite positioniert ist, sodass eine Einführung von NeuSIGs an dieser Position sinnvoll erscheint.

Im Rahmen dieser Arbeit konnten von der Arbeitsgruppe KNAPP zwei Kokristallstrukturen der von BERGER¹³² synthetisierten Anilinopyrimidine **30c–d** der Aurora-Kinase A gewonnen werden, die bisher noch nicht publiziert wurden (Abbildung 2-6). Sie weisen ähnliche Bindemodi auf, sodass im Folgenden der Bindemodus von **30c** erläutert wird (Abbildung 2-6: A). Das Anilinopyrimidinderivat **30c** liegt flach in der ATP-Bindetasche der Aurora-Kinase A vor. Die Benzazepin-2-onpartialstruktur füllt die hydrophobe Region der Bindetasche aus, während das Anilinopyrimidin zur *hinge*-Region orientiert ist und Wasserstoffbrückenbindungen zu dieser ausbildet. Eine CH-Gruppe des Pyrimidinrings bildet eine sehr schwache Wasserstoffbrückenbindung ($D \cdots A = 3.42 \text{ \AA}$) zu Glu211 (*gk+1*) aus. Eine weitere schwache Wasserstoffbrückenbindung ($D \cdots A = 3.11 \text{ \AA}$) liegt zwischen der Carbonylgruppe von Ala213 (*gk+3*) und der NH-Gruppe der Anilinpartialstruktur vor. Eine schwache Wasserstoffbrückenbindung ($D \cdots A = 2.85 \text{ \AA}$) konnte zwischen einem Pyrimidinstickstoffatom und Ala213 festgestellt werden.

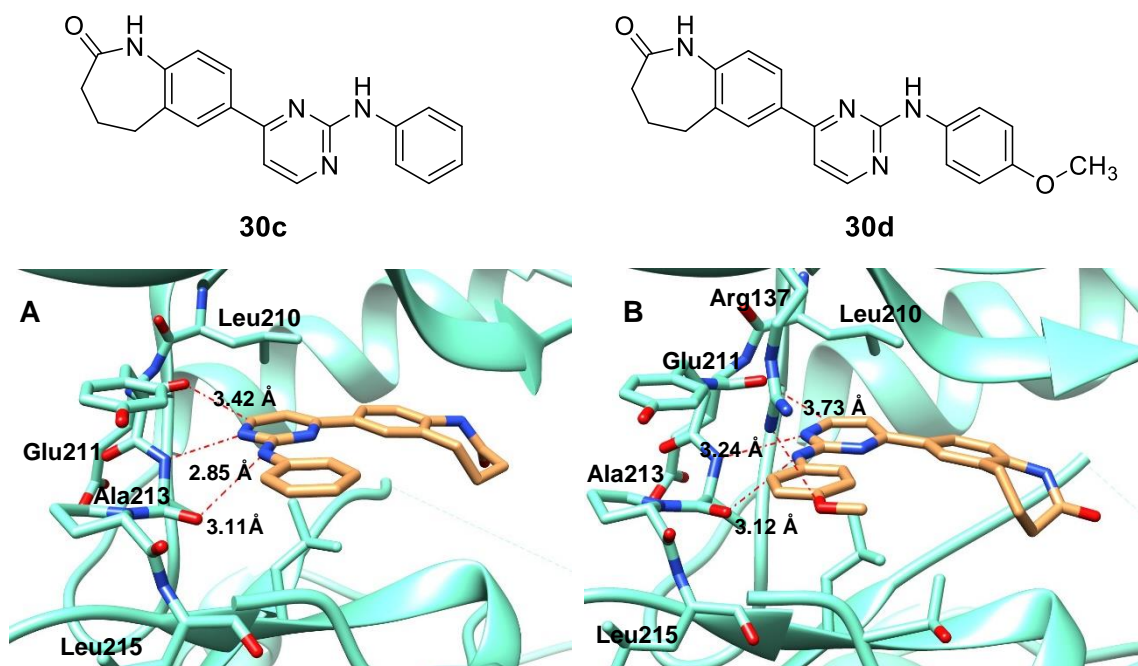


Abbildung 2-6: Nicht publizierte Kokristallstrukturen von **30c** und **30d** (sandbraun) in der Aurora-Kinase A (aquamarin). **A:** Bindemodus von **30c**. **B:** Bindemodus von **30d**. Die Methoxygruppe von **30d** interagiert über eine schwache Wasserstoffbrückenbindung mit Arg137 (D---A = 3.26 Å). Wasserstoffbrückenbindungen werden in roten Strichpunktlinien dargestellt.

Die Bindemodi, die bei der Verwendung von *constraints* beim *docking* der Anilinopyrimidine **30a–d** in der Kokristallstruktur von MLN8054 (**21**) der Aurora-Kinase A (PDB: 2WTV)¹²⁹ gefunden wurden, wurden durch die experimentell ermittelten Kokristallstrukturen der Liganden **30c–d** in der Aurora-Kinase A bestätigt, sodass bei weiteren *docking*-Untersuchungen ebenfalls *constraints* verwendet wurden. Aufgrund der fehlenden Wassermoleküle in den Kokristallstrukturen konnten diese für die *redocking*- und *docking*-Untersuchungen nicht integriert werden. Zunächst wurde ein *redocking* durchgeführt, durch das die Eignung von GOLD für die weiteren *docking*-Studien überprüft wurde. Die Evaluierung erfolgte anhand des RMSD-Werts. In beiden Kokristallstrukturen konnte die jeweilige Pose, welche der experimentellen Originalpose entsprach, wiedergefunden werden. Der RMSD-Wert lag dabei jeweils unter 2.0 Å (Abbildung 2-7).

Die Bindepose von **30d** konnte von GOLD in der Kokristallstruktur mit dem entsprechenden Originalliganden (Abbildung 2-7: B) am besten vorhergesagt

werden, da der RMSD-Wert 1.139 Å betrug. Für weiterführenden *docking*-Untersuchungen wurde daher diese Kokristallstruktur verwendet.

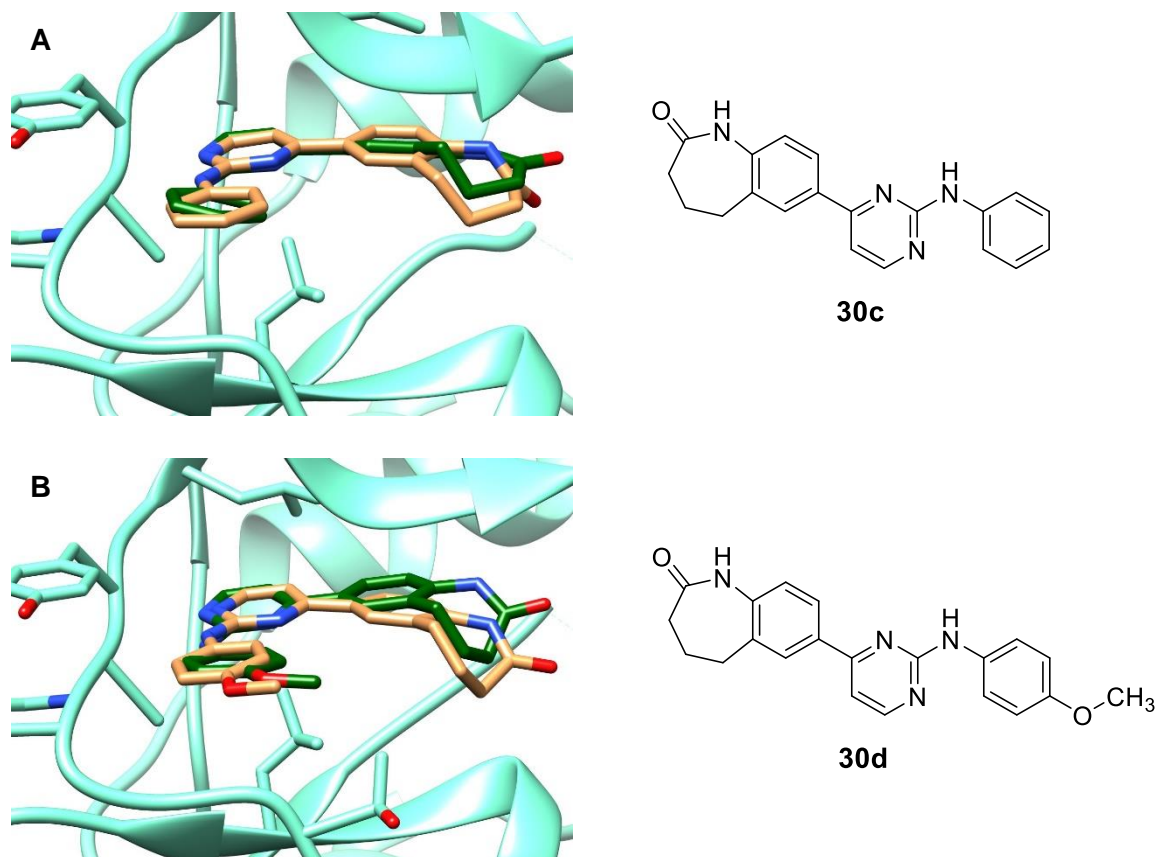


Abbildung 2-7: Redocking-Ergebnisse der 2-Anilinopyrimidine (**30c** und **30d**) in zwei nicht publizierten Kokristallstrukturen der Aurora-Kinase A (aquamarin). Die von GOLD generierten Bindeposen (dunkelgrün) entsprachen nahezu der Bindepose des jeweiligen Originalliganden (sandbraun). **A:** Redocking von **30c** mit einem RMSD-Wert von 1.147 Å. **B:** Redocking von **30d** mit einem RMSD-Wert von 1.139 Å.

2.3.2 Bindemodi der NeuSIGs enthaltenden Anilinopyrimidine

Die NeuSIGs enthaltenden Anilinopyrimidine **31a–i** wurden in der Kokristallstruktur der Verbindung **30d** der Aurora-Kinase A gedockt. Dabei wurden keine *constraints* definiert. Exemplarisch werden die Bindeposen des Anilinopyrimidinderivats, welches mit einem cyclischen Sulfamid substituiert ist, erläutert. Bei den zehn am höchsten gerankten Bindeposen der Verbindung **31a**, welche von GOLD generiert wurden, traten zwei prinzipiell unterschiedliche Orientierungen auf (Abbildung 2-8). Oft wurde die Pose generiert, in der die Benzazepin-2-onpartialstruktur zur *hinge*-Region ausgerichtet ist und schwache

Wasserstoffbrückenbindungen zu dieser ausgebildet. Die Benzazepin-2-on-partialstruktur interagiert dabei mit Ala213 ($gk+3$, $D\cdots A = 4.03 \text{ \AA}$) und mit der Aminosäure Arg137 ($D\cdots A = 2.88 \text{ \AA}$). Letztere entspricht einer starken Wasserstoffbrückenbindung. Daneben bildet die Carbonylgruppe von Glu211 ($gk+1$) mit dem CH-Atom der Pyrimidinpartialstruktur eine schwache Wasserstoffbrücke aus ($D\cdots A = 3.38 \text{ \AA}$). Das NeuSIG (Abbildung 2-8) befindet sich in der *phosphate region* der ATP-Bindetasche. Zusätzlich wird eine schwache Wasserstoffbrückenbindung ($D\cdots A = 3.06 \text{ \AA}$) zwischen dem Sauerstoffatom der Sulfonylgruppe und Lys162 ausgebildet (Abbildung 2-8: A). Dabei ermöglicht die Positionierung des NeuSIGs außerhalb der Bindetasche Interaktionen mit Wassermolekülen. Weiterhin wird eine Bindepose generiert, in der die Anilinopyrimidinpartialstruktur zur *hinge*-Region orientiert ist (Abbildung 2-8: B). Diese Pose findet sich auch in der Kokristallstruktur wieder. Hierbei werden Wasserstoffbrücken zwischen den Aminosäuren der *hinge*-Region und der Anilinopyrimidinpartialstruktur von **31a** ausgebildet. Zwischen Ala213 ($gk+3$) und der anilinischen NH-Gruppe ($D\cdots A = 3.06 \text{ \AA}$) bzw. dem Pyrimidinstickstoffatom ($D\cdots A = 2.78 \text{ \AA}$) liegen schwache Wasserstoffbrücken vor. Zusätzlich wird eine schwache Interaktion zwischen Glu211 und dem CH-Atom der Pyrimidinpartialstruktur beobachtet ($D\cdots A = 3.40 \text{ \AA}$). Eine schwache Wasserstoffbrückenbindung wird zwischen der Carbonylgruppe der Benzazepin-2-on-partialstruktur, welche die hydrophobe Region der ATP-Bindetasche ausfüllt, und dem Lys162 ($D\cdots A = 3.16 \text{ \AA}$) ausgebildet. Das NeuSIG, ein cyclisches Sulfamid, ist zur Lösemittel-zugewandten Seite orientiert und bildet zu der Aminosäure Arg220 starke ($D\cdots A = 2.34 \text{ \AA}$) und schwache Wasserstoffbrücken aus ($D\cdots A = 3.09 \text{ \AA}$).

Für die verschiedenen NeuSIGs enthaltenden Anilinopyrimidine **31a–i** wurden ohne Definieren von *constraints* Bindeposen wie in Abbildung 2-8: A erzeugt. Vergleichbare Bindeposen zu denen, die in der Kokristallstruktur von **30d** oder in der Kokristallstruktur von MLN8054 (**21**) vorlagen, konnten nur selten generiert werden. Diese erscheinen jedoch typisch für Verbindungen, welche eine Anilinopyrimidinpartialstruktur aufweisen. Daher wurde in GOLD bei der Generierung von Bindeposen zwischen der NH-Gruppe der Anilinpartialstruktur

und dem Sauerstoffatom der Carbonylgruppe von Ala213 eine Wasserstoffbrückenbindung definiert (*constraint*).

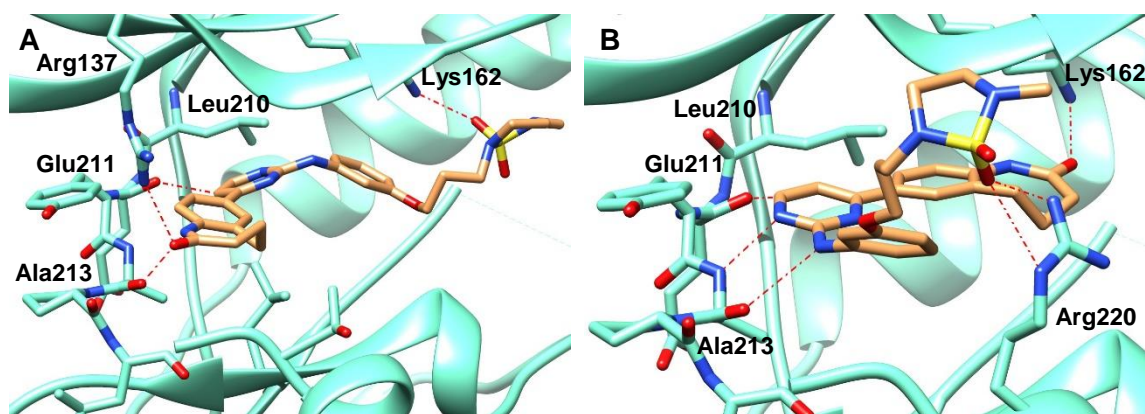
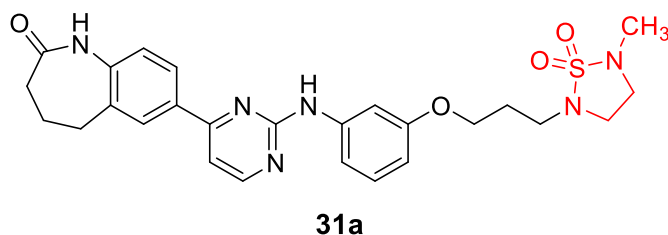


Abbildung 2-8: Zwei *docking*-Posen von **31a** (sandbraun) in der ATP-Bindetasche der Aurora-Kinase A (nicht publizierte Kokristallstruktur, aquamarin), jeweils ohne *constraints* erzeugt. Die Abstände der Wasserstoffbrückenbindungen wurden aus Gründen der Übersichtlichkeit nicht dargestellt. **A:** Pose mit Ausrichtung der Benzazepin-2-onpartialstruktur in Richtung der *hinge*-Region. **B:** In der alternativen Pose ist die Anilinopyrimidinpartialstruktur zur *hinge*-Region orientiert und bildet Wasserstoffbrückenbindungen (rote Strichpunktlinie) aus. Das NeuSIG ist in der Strukturformel in der Farbe Rot hervorgehoben.

Exemplarisch wird im Folgenden die Bindepose von **31b** erläutert (Abbildung 2-9). Das Anilinopyrimidin ist zur *hinge*-Region orientiert und interagiert mit den Aminosäuren Glu211 (*gk+1*) und Ala213 (*gk+3*). Der eingeführte Substituent, ein Morpholin-4-sulfonamid, ragt aus der Bindetasche heraus und ist dem Lösemittel zugewandt. Interaktionen mit Wasser wären möglich, sodass Wasser-vermittelte Wechselwirkungen mit dem Protein denkbar sind. Zusätzlich werden Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Aminosäuren Lys141 und Arg220 ausgebildet. Das Benzazepin-2-on füllt die hydrophobe Region der Bindetasche aus und interagiert mit Lys162. Insgesamt wird die ATP-Bindetasche der Aurora-Kinase A gut ausgefüllt. Die Einführung von NeuSIGs an Position 3 oder 4 des Anilinrings erscheint sinnvoll, da diese dann dem Lösemittel zugewandt sind. Zusätzlich üben die NeuSIGs Wechselwirkungen mit Aminosäuren am Eingang

der Bindetasche aus, wodurch die biologische Aktivität positiv beeinflusst werden könnte.

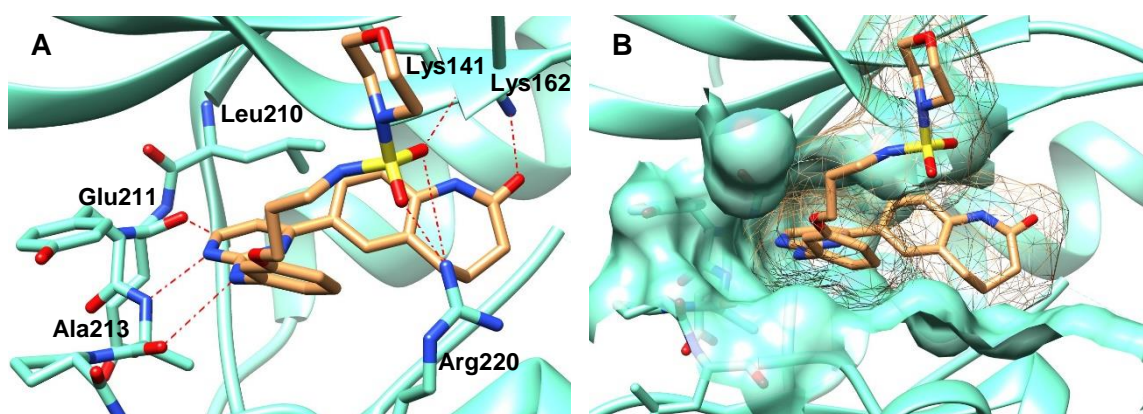
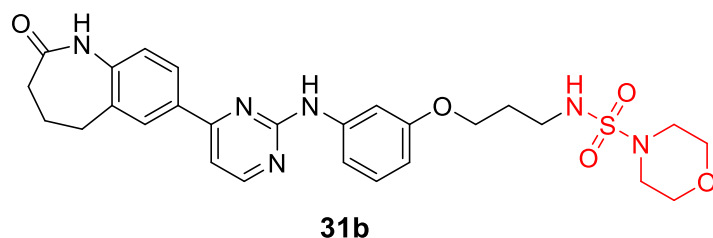


Abbildung 2-9: *Docking*-Ergebnis von **31b** (sandbraun) in der ATP-Bindetasche der Aurora-Kinase A (nicht publizierte Kokristallstruktur, aquamarin). Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurden die Abstände der Wasserstoffbrückenbindungen (rote Strichpunktlinie) nicht angegeben. **A:** Starke Wasserstoffbrückenbindungen zwischen Glu211 und der CH-Gruppe des Pyrimidinrings (D---A = 2.59 Å), sehr schwache Interaktionen zwischen der anilinischen NH-Gruppe und Ala213 (D---A = 3.17 Å) und starke Interaktionen zwischen dem Pyrimidinstickstoffatom und Ala213 (D---A = 2.54 Å). Daneben kann eine schwache Wasserstoffbrückenbindung zwischen der Carbonylgruppe des Benzazepin-2-ons und Lys162 (D---A = 3.02 Å) ausgebildet werden. Die Sulfonylgruppe interagiert mit den Aminosäuren Lys141 und Arg220 (3.33, 2.46 und 3.64 Å). **B:** Oberflächendarstellung der ATP-Bindetasche und des Liganden **31b**. Das NeuSIG wurde in der Strukturformel in der Farbe Rot hervorgehoben.

2.4 Bindemodi verschiedener Liganden in EGFR

In der PDB sind mehr als 200 Kokristallstrukturen des EGFRs mit verschiedenen Liganden hinterlegt. Darunter sind zugelassene bzw. auf dem Markt befindliche EGFR-Inhibitoren, deren Bindemodi im Folgenden erläutert werden.

2.4.1 Bindemodi ausgewählter Inhibitoren der EGFR

Zurzeit befinden sich drei Generationen von EGFR-Inhibitoren auf dem Markt, denen verschiedene Bindemodi in der ATP-Bindetasche von EGFR zugrunde liegen (Abbildung 2-10). Strukturell weisen die EGFR-Inhibitoren der ersten und zweiten Generation einen Anilinochinazolin-Grundkörper auf. Die dritte Generation ist u. a. durch eine Anilinopyrimidinpartialstruktur geprägt.¹³⁷ Während die EGFR-Inhibitoren der ersten Generation wie das Gefitinib (**7a**) oder das Erlotinib (**9**) reversible und nicht-kovalente Bindungseigenschaften aufweisen, binden die EGFR-Inhibitoren der zweiten Generation wie das Afatinib (**27**) und der dritten Generation wie Osimertinib (**8**) irreversibel und kovalent.

Eine Deletion des Exons 19 oder eine Punktmutation auf dem Exon 21 führt beim EGFR zu einer erhöhten Kinaseaktivität.¹³⁷ Eine häufig vorkommende Mutation ist der Austausch der Aminosäure Leucin (L) gegen Arginin (R) an Position 858 (L858R), welche sich in der Aktivierungsschleife der Kinase befindet. Während EGFR-Inhibitoren der ersten Generation bei einer L858R-Mutation eingesetzt werden können, sind sie bei einer Mutation der *gatekeeper*-Aminosäure unwirksam. Dabei wird die Aminosäure Threonin (T) gegen Methionin (M) an Position 790 (T790M) ausgetauscht.¹³⁷ Diese Mutation kann auch während der Therapie erfolgen.¹¹⁰ Bei einer eingetretenen *gatekeeper*-Mutation können Inhibitoren der zweiten¹¹⁰ und dritten¹¹¹ Generation eingesetzt werden, da sie irreversibel an das Target binden.¹³⁷

Der Anilinochinazolin-Grundkörper der ersten und zweiten Generation ist zur *hinge*-Region orientiert. Dabei bildet ein Pyrimidinstickstoffatom eine Wasserstoffbrückenbindung zu Met793 (*gk*+3) aus. Die Substituenten an Position 6 und 7 sind zur Lösemittel-zugewandten Seite orientiert und können u. a. die physikochemischen Eigenschaften modulieren, wohingegen die Substituenten an Position 4 die hydrophobe Region der Bindetasche ausfüllen (Abbildung 2-10). Der EGFR-Inhibitor der zweiten Generation, das Afatinib (**27**), zeichnet sich durch

eine Acrylamidpartialstruktur aus, die eine kovalente Bindung zu EGFR ermöglicht. Hierbei bindet die α,β -ungesättigte Carbonylstruktur als Michael-Akzeptor kovalent an Cys797 (Abbildung 2-10: B).¹³⁸ Dieses Acrylamidstrukturelement ist auch bei EGFR-Inhibitoren der dritten Generation vorhanden.¹³⁷

Unabhängig von einer T790M-Mutation in EGFR können somit die Inhibitoren der zweiten und dritten Generation eingesetzt werden. Neben der Resistenzentwicklung spielt auch die Toxizität eine Rolle bei der Entwicklung neuer Wirkstoffe. Dies führte zur Entwicklung von EGFR-Inhibitoren der dritten Generation, da die zweite Generation zwar bei Vorliegen einer T790M-Mutation eingesetzt werden könnte, jedoch toxische Eigenschaften beobachtet wurden.^{110, 139}

Osimertinib (**8**) stellt einen EGFR-Inhibitor der dritten Generation dar. Die Anilinopyrimidinpartialstruktur ist zur *hinge*-Region orientiert, sodass Wasserstoffbrückenbindungen ausgebildet werden können. Dabei interagieren die anilinische NH-Gruppe und ein Pyrimidinstickstoffatom mit Met793 (*gk+3*). Die *N*-methylierte Indolpartialstruktur liegt flach in der ATP-Bindetasche und füllt die hydrophobe Region aus. Eine kovalente Bindung zwischen dem Acrylamid und Cys797 lag in der Kokristallstruktur nicht vor. Jedoch konnte eine Wasserstoffbrückenbindung zwischen Cys797 und der Carbonylgruppe der Acrylamidteilstruktur festgestellt werden. Daneben werden hydrophobe Wechselwirkungen zwischen Osimertinib (**8**) und den Aminosäuren vom *backbone* wie Val718 oder Phe795 beobachtet (Abbildung 2-10: C).¹⁴⁰ Der beschriebene Bindemodus wurde nicht bei einem Protein-Ligand-Komplex beobachtet, der durch ein Kokristallisationsverfahren aus Protein und Ligand erzeugt worden war. Vielmehr wurden diese Kristalle durch ein *soaking*-Verfahren hergestellt, bei dem Proteinkristalle einer Lösung des Liganden zugesetzt wurden, um so das Eindiffundieren des Liganden in die bestehende kristalline Architektur zu ermöglichen.¹⁴⁰ Diese Methode der Gewinnung einer Kokristallstruktur führte auch bei Dacomitinib (**28**) zu einer fehlenden kovalenten Bindung der Acrylamidpartialstruktur mit Cys797.^{140, 141}

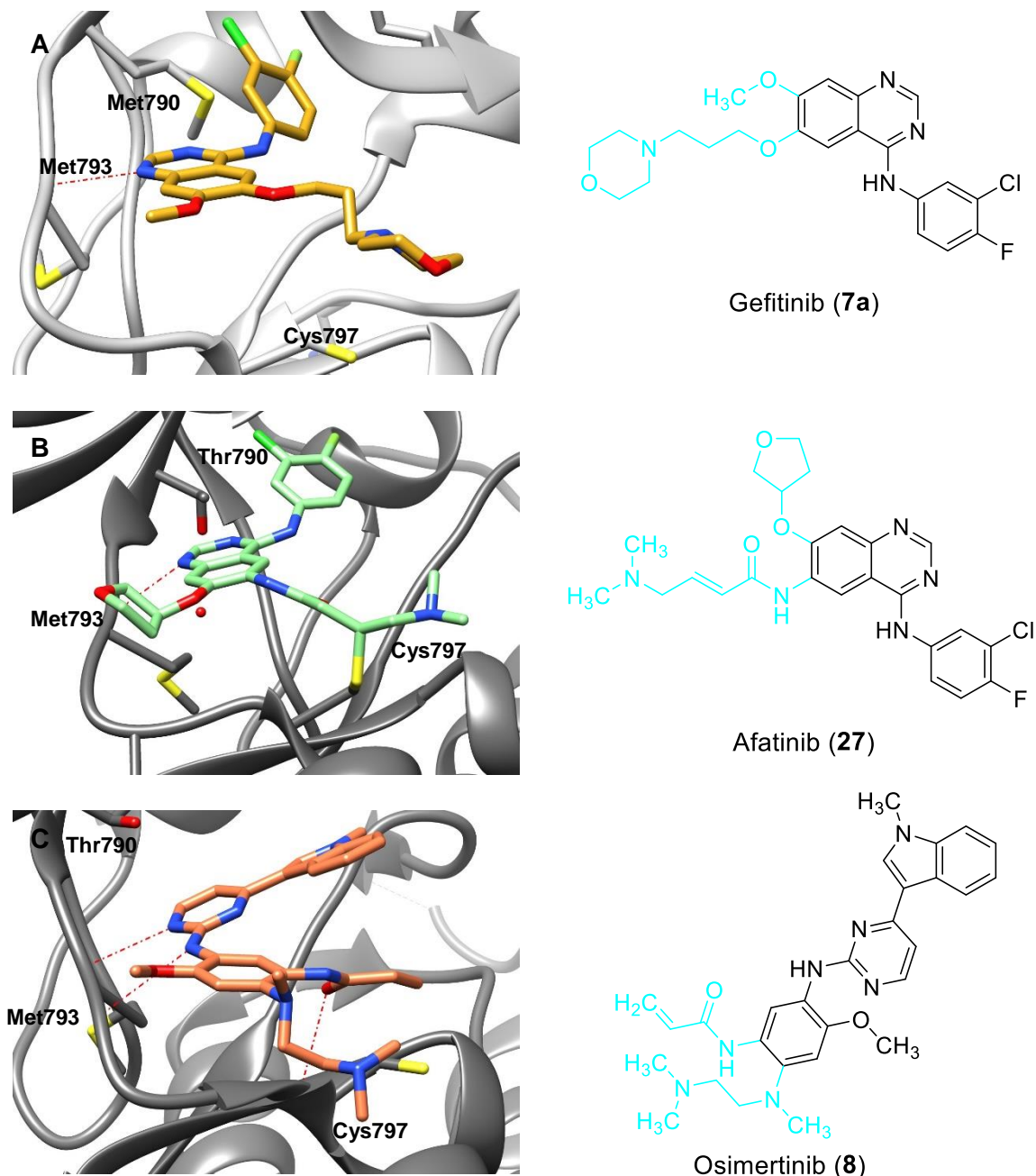


Abbildung 2-10: Kokristallstrukturen von EGFR-Inhibitoren der ersten, zweiten und dritten Generation. **A:** Gefitinib (**7a**, rotgold), ein Inhibitor der ersten Generation, in der ATP-Bindetasche von EGFR mit Mutationen an L858R, T790M und V948R (PDB: 4I22, grau).¹⁴¹ **B:** Afatinib (**27**, hellgrün), ein Inhibitor der zweiten Generation, der kovalent an Cys797 gebunden ist, in der ATP-Bindetasche von EGFR (PDB: 4G5J, dunkelgrau).¹³⁸ **C:** Osimertinib (**8**, korallenrot), ein Inhibitor der dritten Generation in der ATP-Bindetasche von EGFR (PDB: 4ZAU, dunkelgrau).¹⁴⁰ In den jeweiligen Strukturformeln werden in blau die Substituenten hervorgehoben, welche zur Lösemittel-zugewandten Seite zeigen. Die Wasserstoffbrückenbindungen sind in roten Strichpunktlinien dargestellt.

2.5 Bindemodi der NeuSIGs enthaltenden Anilinochinazoline

Die NeuSIGs enthaltenden Anilinochinazolin-Derivate (**7a–i**) wurden in EGFR gedockt und die erhaltenen Bindeposen analysiert. Die publizierte Kokristallstruktur von Gefitinib (**7a**) in EGFR wurde verwendet, da die synthetisierten Derivate strukturelle Ähnlichkeiten zu diesem Inhibitor aufweisen (PDB: 4l22).¹⁴¹ Definierte Wechselwirkungen mit dem Protein (*constraints*) wurden nicht festgelegt. Wassermoleküle, die sich in der ATP-Bindetasche befinden, wurden durch die *toggle function* in GOLD berücksichtigt.

Zu Beginn wurde durch *redocking*-Experimente die Eignung des *docking*-Programms GOLD überprüft. Für Gefitinib (**7a**) konnte ein RMSD-Wert unter 2.0 Å erzielt werden (Abbildung 2-11, RMSD-Wert von 1.946 Å), sodass weiterführende *docking*-Untersuchungen mit den NeuSIG enthaltenden Anilinochinazolin-derivaten **7b–i** sinnvoll erschienen.

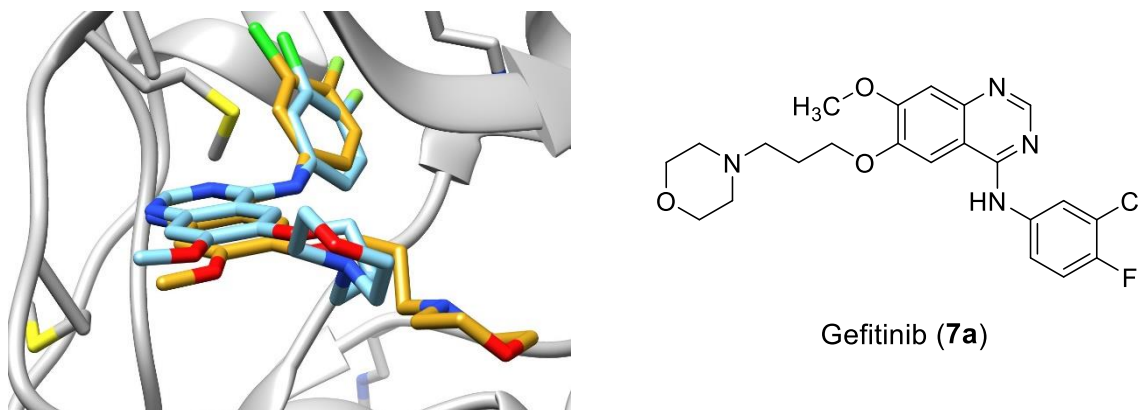


Abbildung 2-11: *Redocking*-Ergebnis von Gefitinib (**7a**) in der ATP-Bindetasche von EGFR (PDB: 4l22, grau).¹⁴¹ Der RMSD-Wert zwischen dem Originalliganden (rotgold) und der von GOLD ermittelten Bindepose (himmelblau) mit dem höchsten *ChemScore* (51.08) der Verbindung **7a** beträgt 1.946 Å. Lediglich der aus der Bindetasche herausragende Morpholinopropyl-Substituent zeigt eine starke strukturelle Abweichung zwischen vorhergesagter und realer Pose.

Die anschließenden *docking*-Untersuchungen der Verbindungen **7b–i** wurden in der Kokristallstruktur von Gefitinib in EGFR durchgeführt (PDB: 4l22).¹⁴¹ Hierbei wurden für **7b–i** ähnliche Bindeposen generiert, sodass exemplarisch die Bindemodi von **7b** und **7c** erläutert werden. Das Anilinochinazolinderivat **7b** enthält als mögliche Löslichkeitsverbessernde Gruppe ein cyclisches Sulfamid. Dieses ragt aus der ATP-Bindetasche von EGFR heraus und ist zur Lösemittelzugewandten Seite orientiert. Zusätzlich bildet das Sauerstoffatom der

Sulfongruppe eine sehr schwache Wasserstoffbrückenbindung zu Cys797 aus ($D\cdots A = 3.80 \text{ \AA}$). Der Chinazolinring ist zur *hinge*-Region orientiert und weist zwei Wasserstoffbrückenbindungen auf. Neben einer Interaktion eines Pyrimidinstickstoffatoms zu Met793 ($gk+3$; $D\cdots A = 3.01 \text{ \AA}$) konnte eine Wechselwirkung zwischen der CH-Gruppe vom *N*-Heterozyklus und der Carbonylgruppe vom *backbone* der Aminosäure Gln791 ($gk+1$, $D\cdots A = 3.27 \text{ \AA}$) festgestellt werden. Der Anilinring füllt die hydrophobe Region der ATP-Bindetasche aus und bildet zu den dortigen Aminosäuren, wie dem Val726, hydrophobe Wechselwirkungen aus (Abbildung 2-12).

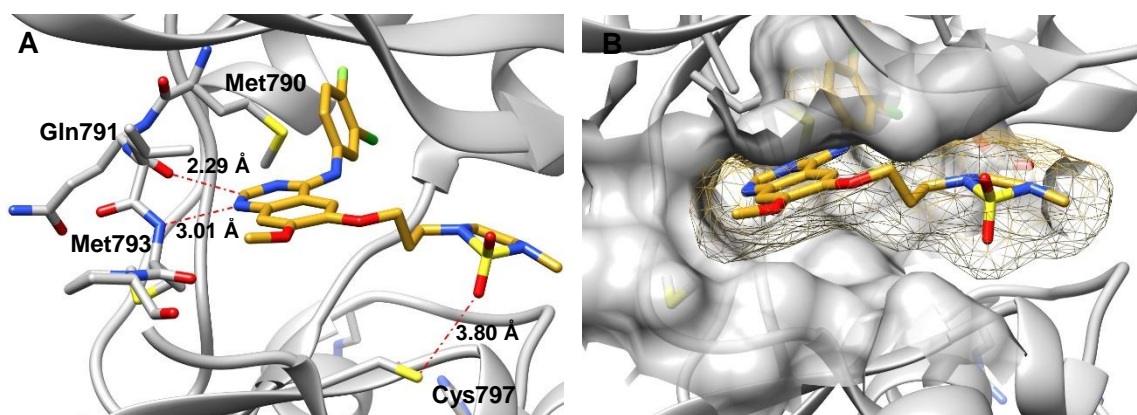
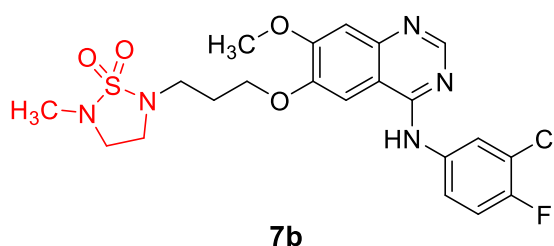


Abbildung 2-12: *Docking*-Ergebnis von **7b** (rotgold, *ChemScore* = 39.08) in der ATP-Bindetasche von EGFR (PDB: 4l22, grau).¹⁴¹ Die Wasserstoffbrückenbindungen sind als rote Strichpunktlinien dargestellt. **A:** Darstellung der Wasserstoffbrückenbindung zwischen **7b** und dem Protein. **B:** Oberflächendarstellung der ATP-Bindetasche und **7b**. Dabei wird die ATP-Bindetasche von dem Liganden gut ausgefüllt.

Das NeuSIG enthaltende Anilinochinazolinderivat **7c** weist eine ähnliche Bindepose wie **7b** auf. Dabei ist der Chinazolinring zur *hinge*-Region orientiert und interagiert mit den Aminosäuren Gln791 ($gk+1$) und Met793 ($gk+3$). Die Anilinpartialstruktur befindet sich in der hydrophoben Region in der ATP-Bindetasche und füllt diese gut aus. Das NeuSIG, ein Morpholin-4-sulfonamid, ist zur Lösemittel-zugewandten Seite orientiert, sodass Wechselwirkungen mit Wassermolekülen erfolgen können. Weiterhin bindet die

NH-Gruppe vom NeuSIG über eine schwache Wasserstoffbrückenbindung an Leu718 ($D\cdots A = 2.89 \text{ \AA}$) (Abbildung 2-13).

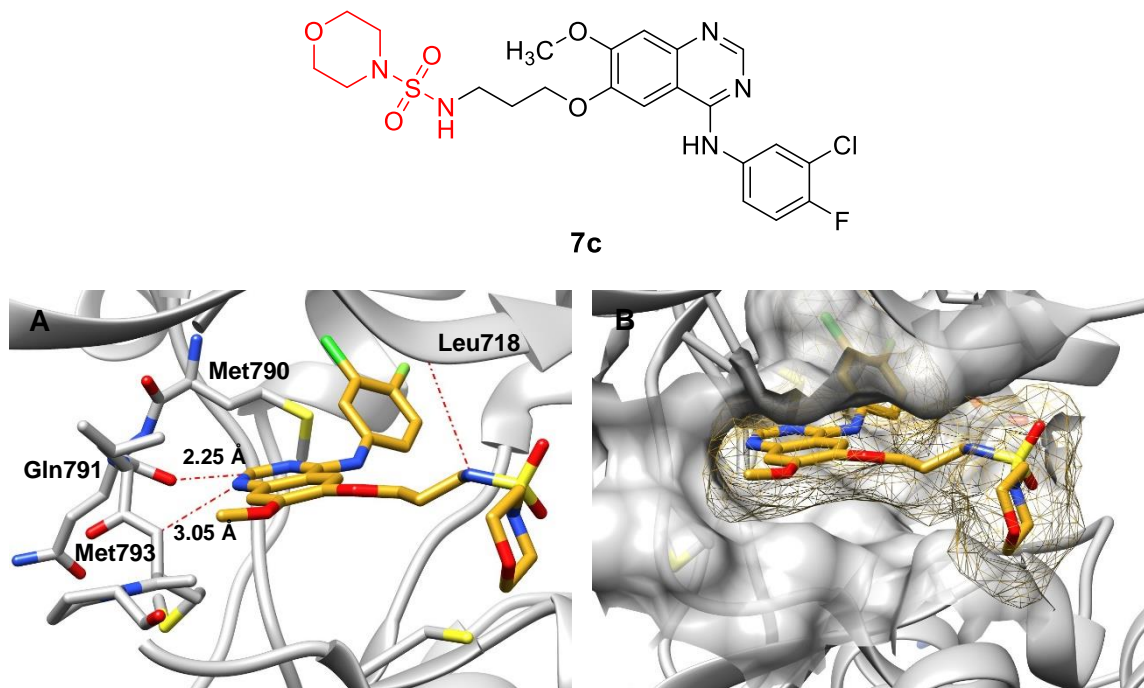


Abbildung 2-13: *Docking*-Ergebnis von **7c** (rotgold, ChemScore = 50.36) in der ATP-Bindetasche der EGFR (PDB: 4I22, grau).¹⁴¹ **A:** Sehr schwache Wasserstoffbrückenbindungen zwischen Gln791 (*gk+1*) und dem CH-Atom des Pyrimidinrings ($D\cdots A = 3.26 \text{ \AA}$) und schwache Interaktionen zwischen dem NH-Atom der Morpholin-4-sulfonamidpartialstruktur und Leu718 ($D\cdots A = 2.89 \text{ \AA}$). Daneben kann eine schwache Wasserstoffbrückenbindung zwischen einem Pyrimidinstickstoffatom und Met793 (*gk+3*, $D\cdots A = 3.05 \text{ \AA}$) ausgebildet werden. Die Wasserstoffbrückenbindungen sind in roten Strichpunktlinien dargestellt. **B:** Oberflächendarstellung der ATP-Bindetasche und des Liganden **7c**. Das NeuSIG wurde in der Strukturformel in der Farbe Rot hervorgehoben.

2.6 Schlussfolgerungen aus *docking*-Studien

Die Einführung von NeuSIGs in Strukturen der Anilinopyrimidine und Anilinochinazoline ergab sinnvolle Bindemodi innerhalb der ATP-Bindetasche der Aurora-Kinase A bzw. des EGFR. Dabei zeigte die einzuführende Löslichkeitsverbessernde Gruppe stets zur Lösemittel-zugewandten Seite, sodass Interaktionen mit Wassermolekülen erfolgen können. Zudem werden die Interaktionen des jeweiligen Grundkörpers in der *hinge*-Region nicht beeinflusst. Somit sollte auch nach Einführung der Löslichkeitsverbessernden Gruppen die biologische Aktivität beibehalten werden, obwohl eine Strukturmodifizierung durchgeführt wurde.

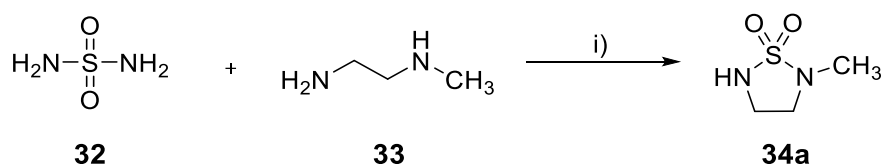
3 Synthese

An die Strukturen der Anilinopyrimidine **30a–b** und **30e** und des Anilinochinazolins **7a** wurden *N*-alkylierte Sulfamide (NeuSIGs) angeknüpft. Die Basis für die Strukturmodifikationen bildeten die Ergebnisse der *docking*-Untersuchungen, denen zufolge die einzuführende Gruppe stets dem Lösungsmittel zugewandt war. Zunächst erfolgte die Synthese der *N*-alkylierten Sulfamide, die anschließend über einen Propylenlinker mit Anilinopyrimidinen und Anilinochinazolen verknüpft wurden. Im folgenden Kapitel werden neben den Synthesen der angestrebten Endstufen auch analytische Besonderheiten beschrieben.

3.1 Edukte

3.1.1 2-Methyl-1,2,5-thiadiazolidin-1,1-dioxid

Ausgehend von den kommerziell erhältlichen Edukten Sulfamid (**32**) und *N*-Methylethylendiamin (**33**) erfolgte nach KIM *et al.*¹⁴² die Synthese des cyclischen Sulfamids 2-Methyl-1,2,5-thiadiazolidin-1,1-dioxid (**34a**). Hierbei wurde in eine Suspension aus **32** in wasserfreiem Pyridin die Verbindung **33** hinzugegeben, welche in einer nukleophilen Substitutionsreaktion am Schwefelatom unter Freisetzung von Ammoniak¹⁴³ zu **34a** umgesetzt wurde (Schema 3-1).



Schema 3-1: Synthese des cyclischen Sulfamids **34a**. i) wasserfreies Pyridin, N_2 -Atmosphäre, Rückfluss, 3–16 h, <1%.

Abweichend zu den Beobachtungen von KIM *et al.*¹⁴² kam es nach Anreiben des als Produkt isolierten gelblichen Öls mit *n*-Hexan nicht zur Ausfällung eines farblosen Feststoffs. Auch mit anderen Lösungsmitteln (Petrolether, Diethylether, THF, Chloroform und Acetonitril) konnte keine Ausfällung erreicht werden. Die Vorschrift von DOU *et al.*⁸³ beinhaltet eine Aufreinigung von Verbindungen wie **34a**. Der Unterschied zu der Methode von KIM *et al.*¹⁴² besteht dahingehend, dass der Rückstand in Ethylacetat aufgenommen und mit gesättigter Natriumchloridlösung und 1 M Salzsäurelösung gewaschen wird.⁸³ In Anlehnung an dieses Verfahren

wurde ein gelbliches Öl erhalten, in dem jedoch farblose Kristalle vorlagen. Die Bildung des gelblichen Öls könnte durch die Anwesenheit von Polymeren¹⁴³ zu erklären sein, die während der langen Reaktionsdauer von 16 Stunden entstanden sein könnten. Daher wurde untersucht, inwiefern die Reaktionsdauer Einfluss auf die Ausbeute hatte. Bei einer Reaktionsdauer von 3, 8 und 16 h wurden Ausbeuten des kristallinen Feststoffs unterhalb 1% erzielt. Ein hoher Substanzverlust bei der Aufarbeitung von **34a** kann als mögliche Ursache für die niedrige Ausbeute in Betracht gezogen werden.

Sowohl die farblosen Kristalle als auch das gelbliche Öl wurden getrennt voneinander näher untersucht, da **34a** in der Literatur sowohl als weißer Feststoff¹⁴² als auch als farbloses Öl¹⁴³ beschrieben wird. In massenspektroskopischen Untersuchungen mit der Ionisierungstechnik der *atmospheric solid analysis probe* (ASAP) und der Ionenquelle der chemischen Ionisation bei Atmosphärendruck (engl. *atmospheric pressure chemical ionisation*, APCI) wurden sowohl für den farblosen Feststoff als auch für das gelbliche Öl Masse-zu-Ladung-Verhältnisse (m/z) von 137 $[M+H]^+$ und 273 $[2M+H]^+$ beobachtet. Das Massenspektrum des gelblichen Öls zeigt zusätzlich höhere Massen, die nicht zugeordnet werden konnten. Vermutlich entsprechen diese Oligomeren der Verbindung **34a**, welche durch die Synthese gebildet wurden. Aus ökonomischen Gründen wurde für Folgereaktionen mit **34a** das gewonnene gelbliche Öl eingesetzt, das unter den beschriebenen Reaktionsbedingungen in Rohausbeuten von 71–96% erhalten wurde.

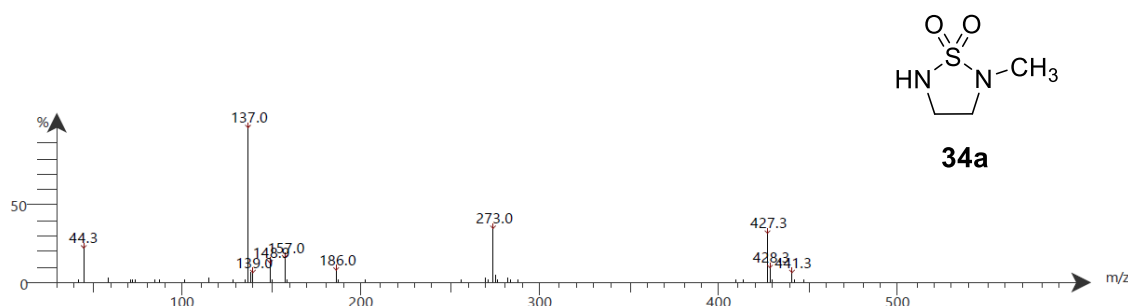
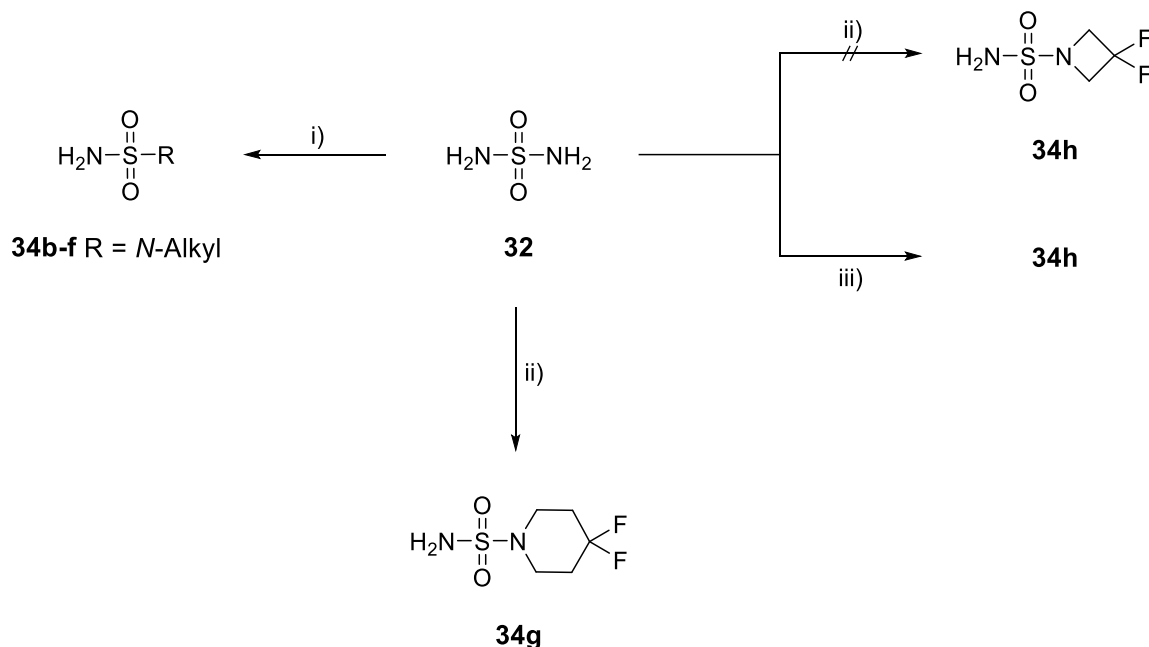


Abbildung 3-1: Massenspektrum der Verbindung **34a** ($m/z = 137 [M+H]^+$, gelbliches Öl) im positiven Modus der ASAP-MS (APCI-Quelle). Die relative Intensität (%) ist gegen das Masse-zu-Ladung-Verhältnis (m/z) aufgetragen. Das Signal bei 273 könnte $[2M+H]^+$ entsprechen.

3.1.2 *N*-Alkylierte Sulfamide

In Anlehnung an die Vorschrift von EBDEN *et al.*¹⁴⁴ wurde Sulfamid (**32**) mit verschiedenen *N*-heterozyklischen Verbindungen umgesetzt (Schema 3-2).

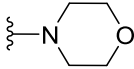
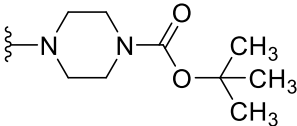
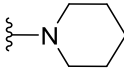
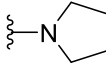
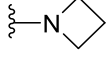
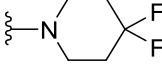
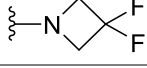


Schema 3-2: Synthese der *N*-alkylierten Sulfamide **34b–h**. i) Basische sekundäre *N*-heterozyklische Amine, 1,4-Dioxan, Rückfluss, 24–48 h, 15–85%; ii) 4,4-Difluorpiperidinhydrochlorid oder 3,3-Difluorazetidinhydrochlorid, DIPEA, *n*-Butylacetat, Rückfluss, 12 h, 29% für **34g**; iii) 3,3-Difluorazetidinhydrochlorid, Triethylamin, 1,4-Dioxan, Rückfluss, 24 h, 31%.

Dabei erfolgt ein nukleophiler Angriff der eingesetzten Amine an der Sulfonylgruppe von Sulfamid (**32**), bei dem unter Abspaltung von Ammoniak die entsprechenden *N*-alkylierten Sulfamide **34b–h** entstehen (Tabelle 3-1).

Die Synthese von difluorierten *N*-alkylierten Sulfamiden **34g–h** (Tabelle 3-1) wurde nach einer Vorschrift von LANGE *et al.*¹⁴⁵ angestrebt. Das Sulfamid (**32**) wurde dazu unter basischen Bedingungen mit 4,4-Difluorpiperidinhydrochlorid versetzt. Bei der Aufreinigung von **34g** wurde jedoch statt eines farblosen Feststoffs ein rotbraunes Öl erhalten, wobei eine Ausbeute von 29% erzielt wurde. Durch die Reduzierung der Reaktionsdauer auf 12 Stunden konnte eine Verdopplung der Ausbeute (67%) erreicht werden. Die Verbindung **34h** konnte nach der zuvor beschriebenen Vorschrift nicht synthetisiert werden, weshalb ein alternatives Verfahren nach AKKARI *et al.*¹⁴⁶ angewendet wurde (Schema 3-2).

Tabelle 3-1: Reaktionsdauer und Ausbeuten bei der Synthese *N*-alkylierter Sulfamide **34b–h**.

Verbindung ^a	$\text{H}_2\text{N}-\overset{\text{O}}{\overset{\parallel}{\text{S}}}-\text{R}$	Reaktionsdauer	Ausbeute
34b		48 h	58%
34c		24 h	58%
34d		24 h	60%
34e		24 h	85%
34f		24 h	15%
34g		12 h	67%
34h		24 h	31%

a: **34b–f**: Methode nach EBDEN *et al.*¹⁴⁴; **34g**: modifizierte Methode nach LANGE *et al.*¹⁴⁵; **34h**: Methode nach AKKARI *et al.*¹⁴⁶

3.1.3 7-(2-Anilinopyrimidin-4-yl)-1,3,4,5-tetrahydro-2H-1-benzazepin-2-one

Die Synthese der 2-Anilinopyrimidine **30a–b** und **30e** (Abbildung 3-2), an die *N*-alkylierte Sulfamide angeknüpft werden sollten, erfolgte nach einem von BERGER¹³² etablierten mehrstufigen Syntheseweg, dessen einzelne Synthesestufen im Folgenden dargestellt werden.

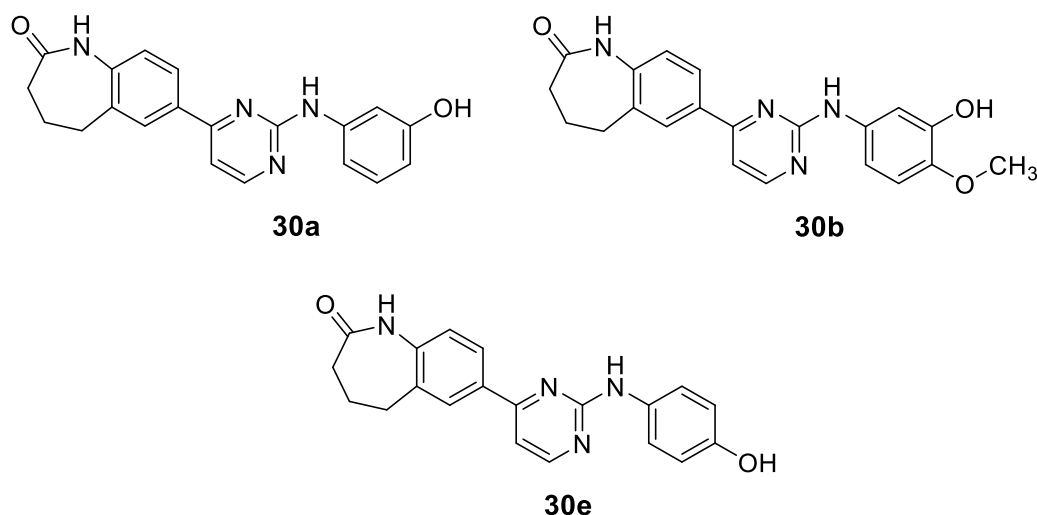
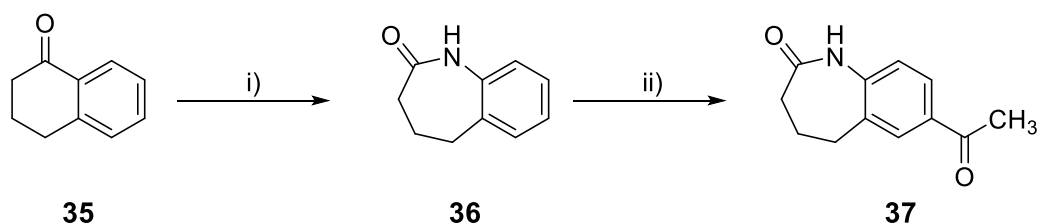


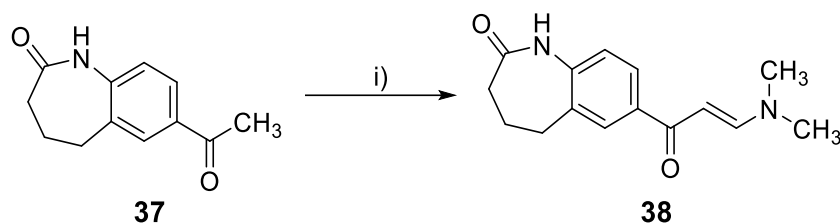
Abbildung 3-2: Darstellung der 2-Anilinopyrimidine **30a–b** und **30e**, welche den Ausgangspunkt für weitere Derivatisierungsreaktionen bildeten.

Die Darstellung der 2-Anilinopyrimidine **30a–b** und **30e** erfolgte ausgehend von kommerziell erhältlichem α -Tetralon (**35**). Die Umsetzung zu 1,3,4,5-Tetrahydro-2*H*-1-benzazepin-2-on (**36**) wurde in einer Schmidt-Reaktion mit Natriumazid in einem Schwefelsäure/Eisessig-Gemisch durchgeführt (Schema 3-3).^{132, 147}



Schema 3-3: Synthese des acetylierten Lactams **37**. i) NaN_3 , H_2SO_4 , AcOH , Raumtemperatur (RT) \rightarrow 60 °C, 0.5 h, 58%; ii) AcCl , AlCl_3 , CS_2 , RT \rightarrow Rückfluss, 3 h, 28%.

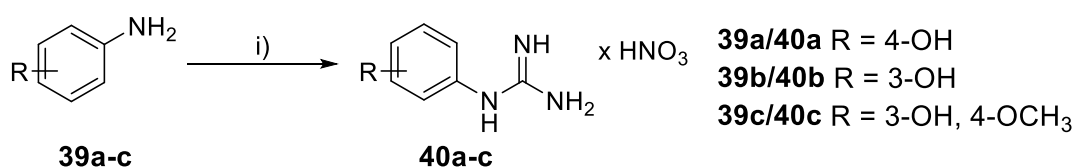
Die anschließende Friedel-Crafts-Acylierung des Lactams **36** mit Acetylchlorid führte regioselektiv zur Synthese von 7-Acetyl-1,3,4,5-tetrahydro-2*H*-1-benzazepin-2-on (**37**).^{132, 148}



Schema 3-4: Synthese der Verbindung **38**. i) *N,N*-Dimethylformamid-Dimethylacetal (DMF-DMA), 110 °C, 13 h, 67%.

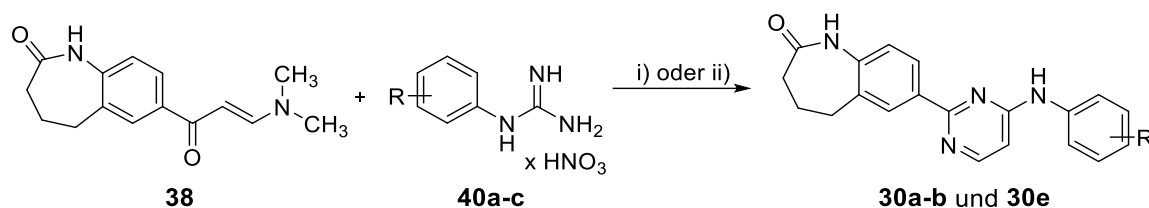
Im nächsten Schritt wurde in Anlehnung an die Vorschrift von CHEN und GILMAN¹⁴⁹ das acetylierte Benzazepin-2-on **37** zu dem Enaminon **38** umgesetzt (Schema 3-4).^{132, 149}

Neben dem Enaminon **38** sind für die Darstellung der 2-Anilinopyrimidine **30a–b** und **30e** die *N*-Phenylguanidiniumnitrate **40a–c** erforderlich. Diese wurden bereits von KOHFELD¹⁵⁰ synthetisiert, weshalb eine Neusynthese nicht erforderlich war. Die *N*-Phenylguanidiniumnitrate **40a–c** wurden aus den entsprechenden Anilinderivaten **39a–c** mit konzentrierter Salpetersäure und Cyanamid-Lösung erhalten (Schema 3-5).¹⁵⁰



Schema 3-5: Synthese der *N*-Phenylguanidiniumnitrate **40a–c** durch KOHFELD.¹⁵⁰
i) 65%ige HNO₃, 50%ige Cyanamid-Lösung, Ethanol, Rückfluss, 9–18 h.

In Anlehnung an MOFFAT *et al.*¹⁵¹ und BERGER¹³² wurden die *N*-Phenylguanidiniumnitrate **40a–c** mit dem Enaminon **38** zu den entsprechenden 2-Anilinopyrimidinen **30a–b** und **30e** umgesetzt (Schema 3-6).



Schema 3-6: Synthese der 2-Anilinopyrimidine mit Angabe der Rohausbeuten. i) NaOH, 2-Propanol, Mikrowelle: 150 W, 140 °C, 60 min, 56% für **30a**; ii) NaOH, *N,N*-Dimethylformamid (DMF), Mikrowelle: 150 W, 175 °C, 60 min, 46% für **30b** und 37% für **30e**.

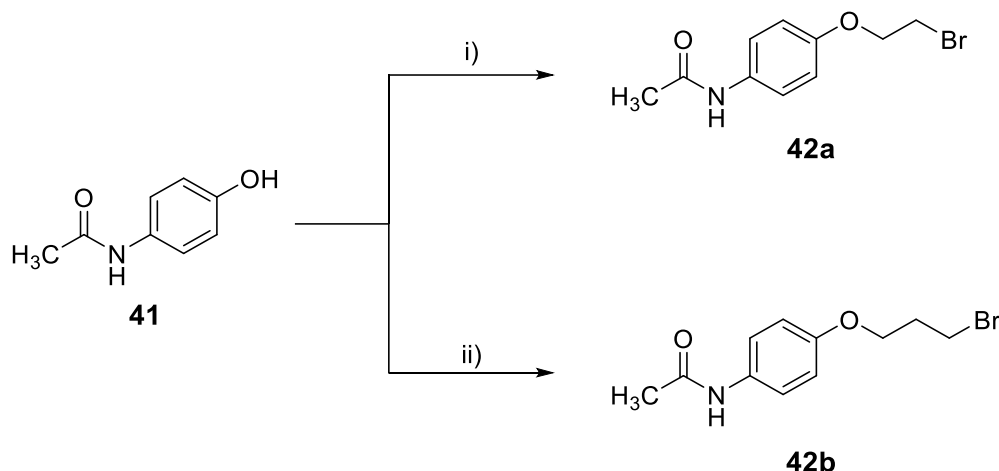
3.1.4 Williamsonsche Ethersynthese

Die angestrebten Zielstrukturen sind mit Alkyllinkern versehen, welche durch ein Veretherung der Hydroxygruppe mit einem Dihalogenalkan angeknüpft werden sollten. Die als Williamsonsche Ethersynthese bezeichnete Reaktion wurde zunächst an Modellsubstanzen erprobt, um anschließend die erfolgreichen Vorschriften auf die Veretherung der Hydroxygruppe der 2-Anilinopyrimidine und der 2-Anilinochinazoline zu übertragen.

Modellsubstanz

Als Modellsubstanz wurde Paracetamol (**41**) verwendet, dessen Hydroxygruppe mit einem Dihalogenalkan verethert wurde (Schema 3-7). In Anlehnung an die Vorschrift von ROSA *et al.*¹⁵² wurde eine Mikrowellen-unterstützte Synthese durchgeführt. Die Hydroxygruppe von **41** wurde durch die Base Kaliumhydroxid deprotoniert. Die Umsetzung zu dem Aryloxyethylbromidderivat **42a** durch eine nukleophile Substitution erfolgte durch Zusatz eines Überschusses an 1,2-Dibromethan (2.5 Äquivalente). Die Umsetzung zu *N*-[4-(2-Bromethoxy)phenyl]acetamid (**42a**) erfolgte innerhalb von 10 Minuten. Neben dem Produkt **42a** konnten dünnschichtchromatographisch Nebenprodukte detektiert werden. Daher wurde nach einer modifizierten Vorschrift von PRÜHS¹⁵³ die Synthese des homologen Ethers angestrebt. Paracetamol (**41**) wurde in getrocknetem Aceton gelöst und unter basischen Bedingungen mit einem

Überschuss an 1,3-Dibrompropan (10 Äquivalente) versetzt. Diese Methode führte zum Aryloxypropylbromidderivat **42b**, dessen Rohausbeute 38% betrug.

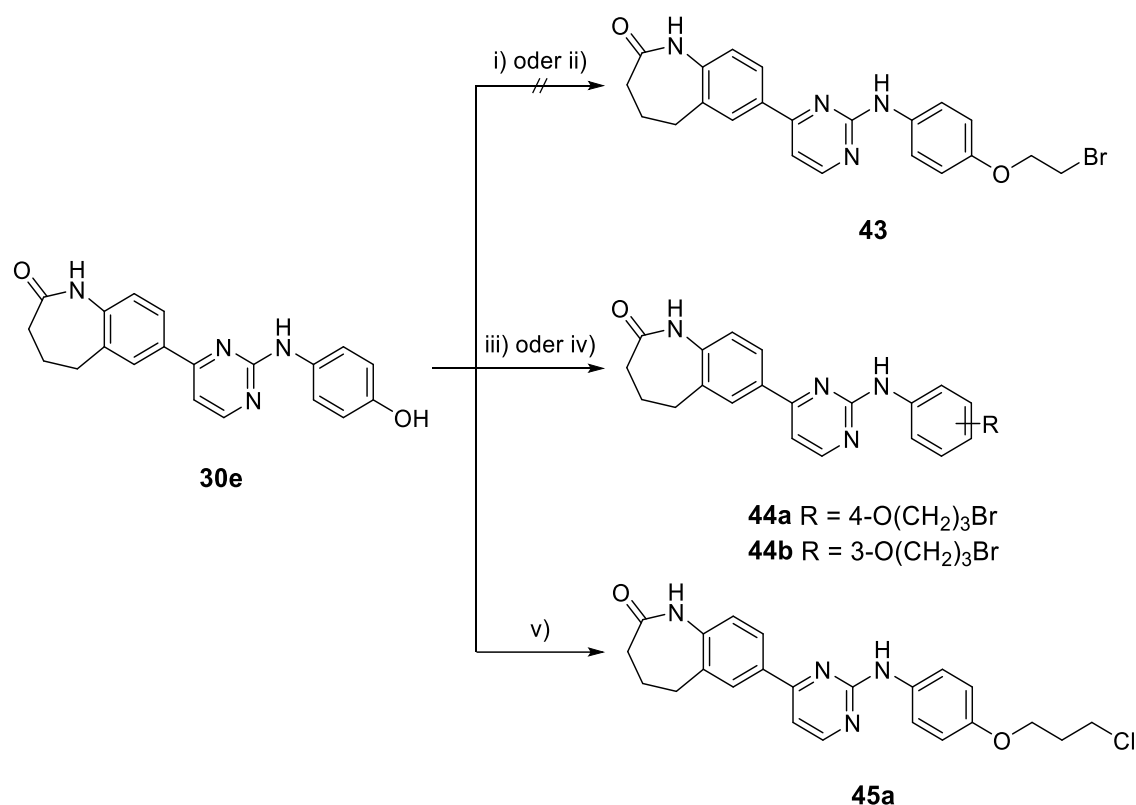


Schema 3-7: Synthese der Aryloxyalkylbromidderivate **42a–b**. i) 1M methanolische KOH, THF, 1,2-Dibromethan, Mikrowelle: 200 W, 90 °C, 10 min, 12%; ii) K₂CO₃, getrocknetes Aceton, 0.5 h zum Rückfluss; dann 1,3-Dibrompropan, RT → Rückfluss, 8 h, 38%.

7-(2-Anilinopyrimidin-4-yl)-1,3,4,5-tetrahydro-2H-1-benzazepin-2-on

In Anlehnung an die Vorschriften nach ROSA *et al.*¹⁵² und PRÜHS¹⁵³, welche für die Ethersynthese mit der Modellschubstanz Paracetamol (**41**) angewendet wurden, sollten die Hydroxygruppen der 2-Anilinopyrimidine **30a–b** und **30e** mit einem Alkyl linker versehen werden. Unter diesen Bedingungen gelang die Umsetzung von **30e** mit 1,2-Dibromethan zum unsymmetrischen Ether **43** nicht. Mit 1,3-Dibrompropan wurden die Aryloxypropylbromidderivate **44a–b** erhalten, wobei entweder Kaliumcarbonat in Aceton¹⁵³ oder Caesiumcarbonat in Acetonitril¹⁵⁴ als Base und Lösungsmittel verwendet wurden (Schema 3-8: iii oder iv).

Die Aufreinigung der Produkte erwies sich jedoch als schwierig. Dünnschichtchromatographisch konnten neben dem Produkt auch Nebenprodukte festgestellt werden, die möglicherweise durch zweifache Substitution des 1,3-Dibrompropan mit dem 2-Anilinopyrimidinderivat **30e** gebildet wurden. Um die Bildung derartiger Dimere zu verhindern, wurde ein 1-Brom-3-chlorpropan (**46**) verwendet (Schema 3-8: v). Weiterhin wurden die Reaktionszeit und die eingesetzten Stoffmengenäquivalente an **46** und von Caesiumcarbonat variiert (Tabelle 3-2).



Schema 3-8: Synthese der Aryloxyethyl- und Aryloxypropylhalogenidderivate **43**, **44a–b** und **45a** mit Angabe der Ausbeuten. i) 1M methanolische KOH, THF, 1,2-Dibromethan, Mikrowelle: 200 W, 90 °C, 10 min; ii) K₂CO₃, getrocknetes Aceton, 0.5 h zum Rückfluss; dann 1,2-Dibromethan, Rückfluss, 10 h; iii) K₂CO₃, getrocknetes Aceton, 0.5 h zum Rückfluss; dann 1,3-Dibrompropan, Rückfluss, 24 h, 20–50%; iv) Cs₂CO₃, 1,3-Dibrompropan, Acetonitril, Rückfluss, 8 h, 40%; v) Cs₂CO₃, 1-Brom-3-chlorpropan, Acetonitril, Rückfluss, 4 h, 49%.

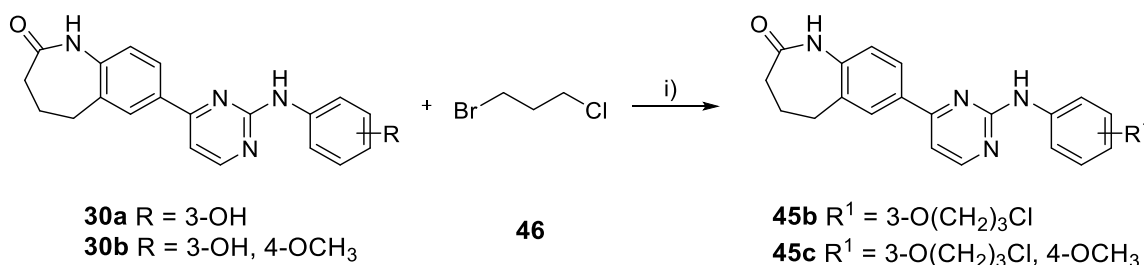
Tabelle 3-2: Variation der Reaktionsbedingungen der in Schema 3-8: v) gezeigten Williamsonschen Ethersynthese mit **30e**.

Cs ₂ CO ₃ (Äquivalente)	46 (Äquivalente)	Reaktionsdauer (h)	Rohausbeute 45a
2	5	4	49%
1	2	4	30%
2	1	4	33%

Eine Erhöhung der Rohausbeute konnte durch Variation der Stoffmengenäquivalente der eingesetzten Edukte nicht erreicht werden. Mit Caesiumcarbonat und fünf Äquivalenten **46** konnte mit 49% die höchste Rohausbeute erzielt werden. Eine laufende dünnschichtchromatographische Kontrolle der Ethersynthese zeigte, dass beim Überschreiten der optimalen

Reaktionsdauer vermehrt Nebenprodukte gebildet wurden und sich die Ausbeute erniedrigte.

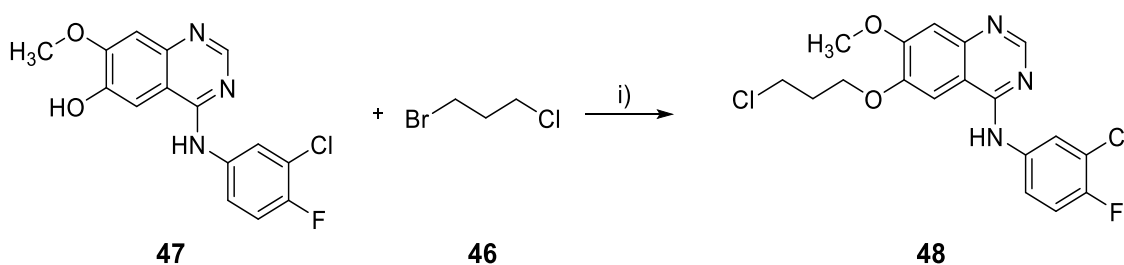
Diese modifizierte Vorschrift zur Synthese der unsymmetrischen Ether wurde auch auf die Anilinopyrimidine **30a–b** angewendet (Schema 3-9).



Schema 3-9: Synthese der Aryloxypropylchloridderivate **45b–c**. i) Cs₂CO₃, Acetonitril, Rückfluss, 2–4 h, 22–25%. Angabe der Rohausbeute.

Veretherung von 4-[(3-Chlor-4-fluorphenyl)amino]-7-methoxychinazolin-6-ol

Die Veretherung der Hydroxygruppe des Anilinochinazolinderivates **47** erfolgte nach einer modifizierten Vorschrift von JIANG *et al.*¹⁵⁴ in Acetonitril. Dazu wurde das kommerziell erhältliche 4-[(3-Chlor-4-fluorphenyl)amino]-7-methoxychinazolin-6-ol (**47**) in Gegenwart von Caesiumcarbonat mit **46** erhitzt (Schema 3-10). Während für die Ethersynthese an den 2-Anilinopyrimidinderivaten **30a–b** und **30e** fünf Stoffmengenäquivalente an **46** eingesetzt wurden, waren für die Synthese des Aryloxypropylchloridderivates **48** zwei Stoffmengenäquivalente des Dihalogenalans **46** ausreichend.

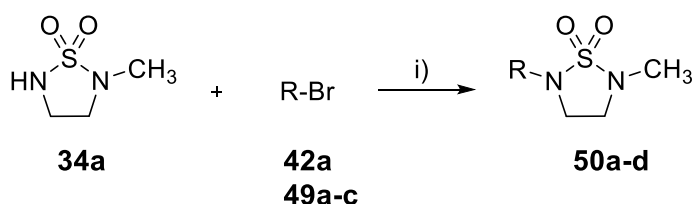


Schema 3-10: Synthese des Aryloxypropylchloridderivates **48**. i) Cs₂CO₃, Acetonitril, Rückfluss, 2 h, 41%.

3.2 Endstufen

3.2.1 Verknüpfung von 2-Methyl-1,2,5-thiadiazolidin-1,1-dioxid mit Modellsubstanzen

Die halogenierten Modellsubstanzen **42a** und **49a–c** wurden für die Verknüpfung mit einem cyclischen Sulfamid **34a** verwendet (Schema 3-11). Nach einer modifizierten Vorschrift von KIM *et al.*¹⁴² wurde dazu **34a** in *N,N*-Dimethylformamid gelöst und mit Natriumhydrid deprotoniert. Die folgenden Reaktionen mit den Halogenalkanen **42a** und **49a–c** ergaben die mit einem cyclischen Sulfamid verknüpften Verbindungen **50a–d** (Tabelle 3-3).



Schema 3-11: Synthese von 2-Methyl-1,2,5-thiadiazolidin-1,1-dioxidderivaten **50a–d**.
i) R-Br, NaH (60%ige Suspension in Paraffinöl), DMF, 0 °C → RT, 15–16 h, 31–64%.

Tabelle 3-3: Ausbeuten der mit einem cyclischen Sulfamid substituierten Modellsubstanzen **50a–d**.

Edukt	R	Produkt	Ausbeute (Produkt)
42a		50a	31%
49a		50b	64%
49b		50c	64%
49c		50d	43%

Das charakteristische Signalmuster der Sulfamidstruktur in den ^1H -NMR-Spektren dieser Verbindungen wird im Folgenden exemplarisch für die Benzylverbindung **50c** erläutert (Abbildung 3-3 und 3-4). Die fünf aromatischen Protonen erscheinen im tiefen Feld (7.31–7.38 ppm). Durch den Anisotropieeffekt des Aromaten und den negativen induktiven Effekt der Sulfamidpartialstruktur werden die Protonen in Benzylposition entschirmt und erscheinen im tiefen Feld als Singulett bei 4.13 ppm. Das Singulett bei 2.63 ppm ist den drei Protonen der CH_3 -Gruppe zuzuordnen. Die Protonen der beiden CH_2 -Gruppen an Position 3 und 4 sind weder chemisch noch magnetisch äquivalent. Sie ergeben als ABCD-System ein Multiplett im Bereich zwischen 3.15 und 3.26 ppm.

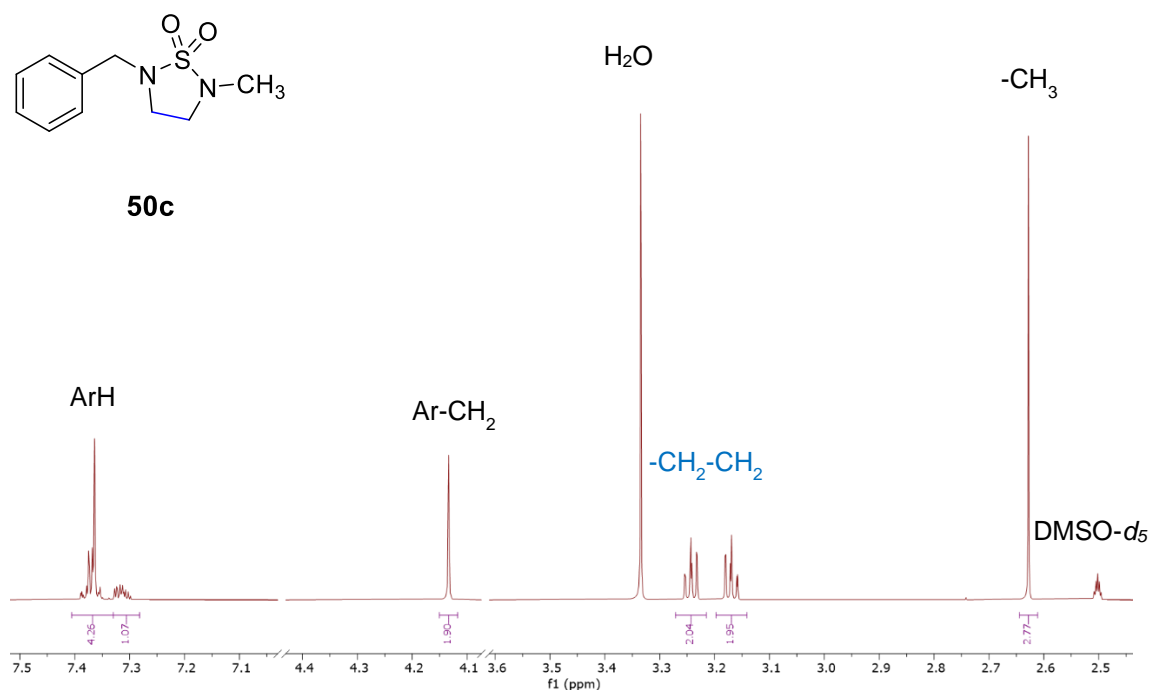


Abbildung 3-3: ^1H -NMR-Spektrum (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) von 2-Benzyl-5-methyl-1,2,5-thiadiazolidin-1,1-dioxid (**50c**). Aus Gründen der Übersicht wurden die Lösungsmittelsignale von Ethylacetat nicht dargestellt.

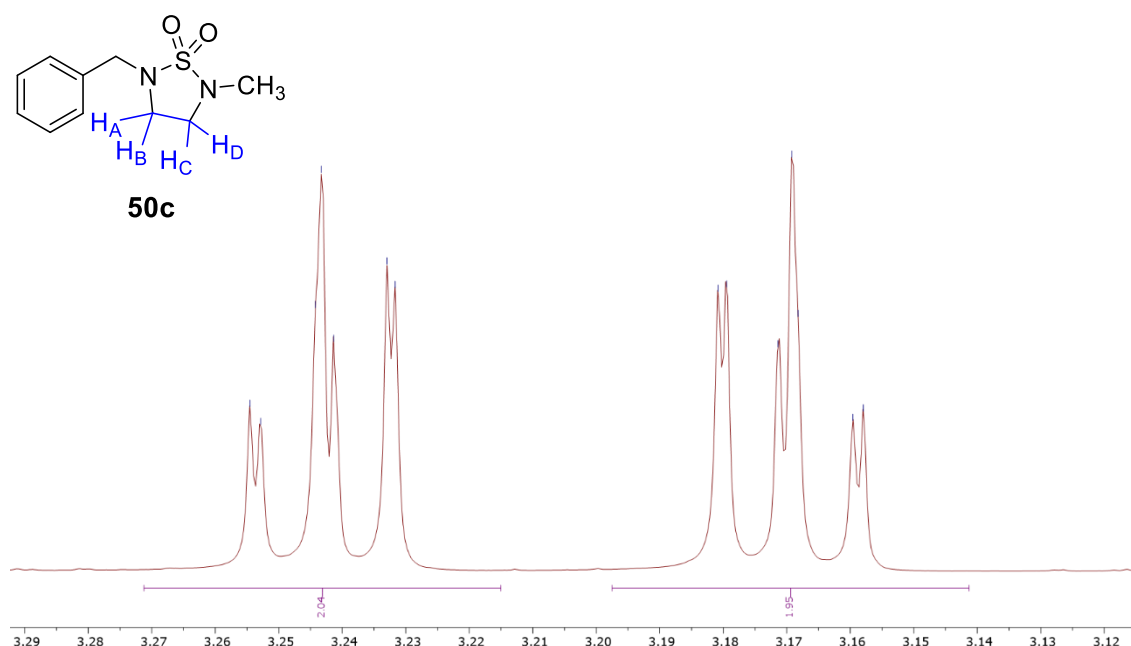


Abbildung 3-4: Ausschnitt aus dem ^1H -NMR-Spektrum (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) der Verbindung **50c**.

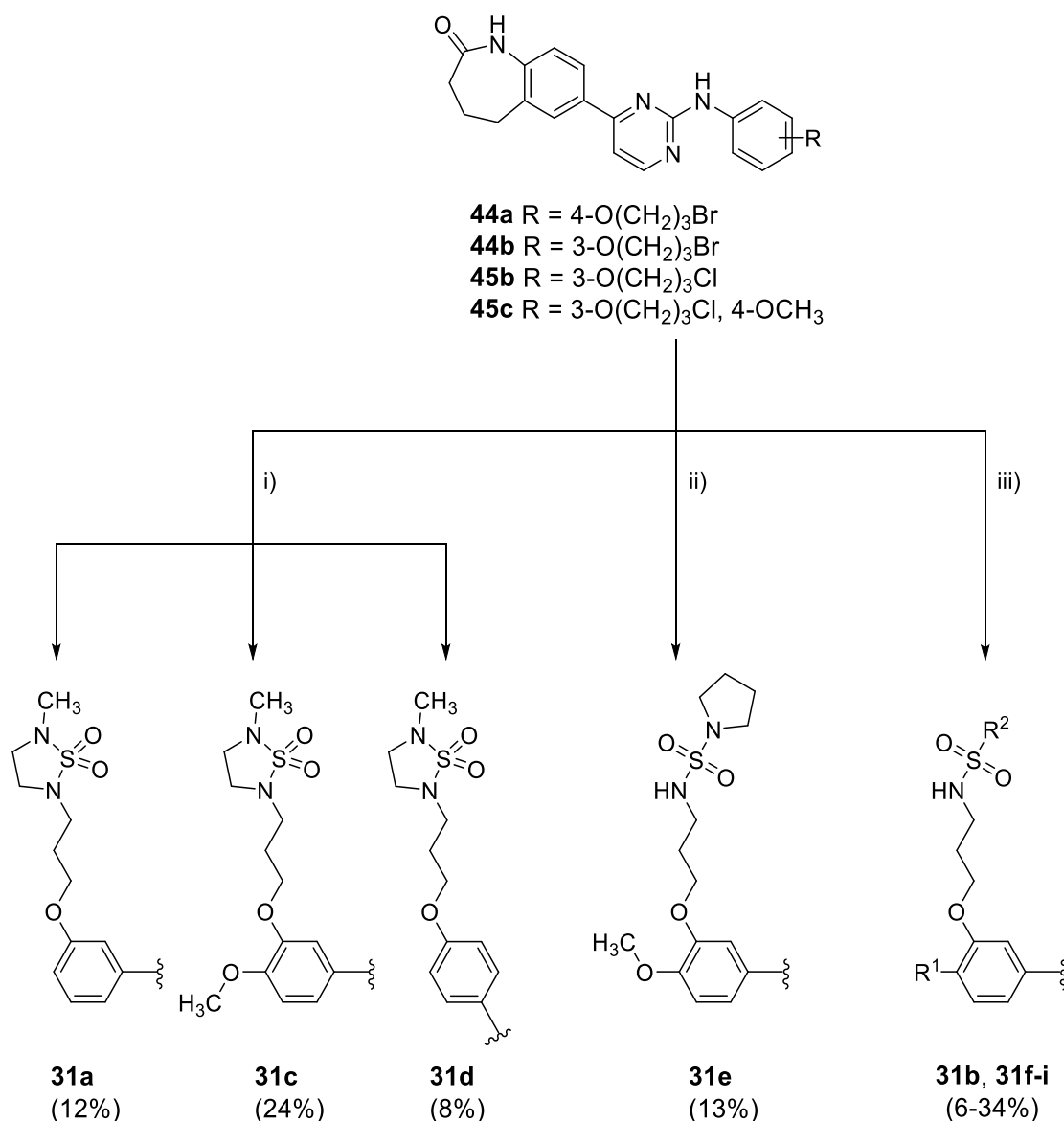
3.2.2 Verknüpfung von *N*-alkylierten Sulfamiden mit 2-Anilinopyrimidinen

Nachdem die grundsätzliche Eignung der Vorschrift der Williamsonsche Ethersynthese für die Modellsubstanzen bestätigt wurde, wurde nach einer modifizierten Vorschrift von KIM *et al.*¹⁴² die Umsetzung der Aryloxypropylhalogenidderivate **44a–b** und **45b–c** mit dem cyclischen Sulfamid **34a** bei Raumtemperatur durchgeführt, wobei nur geringe Ausbeuten erhalten wurden (Schema 3-12).

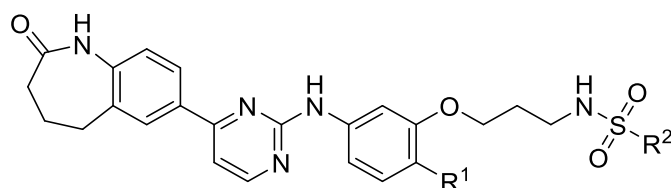
Analog wurde diese Methode für die Anknüpfung des *N*-alkylierten Sulfamids **34e** an das Aryloxypropylchloridderivat **45c** angewendet (Schema 3-12). Eine Umsetzung zum Pyrrolidin-1-sulfonamidderivat **31e** fand dabei erst bei erhöhten Temperaturen statt. Nachteilig bei dieser Methode war der Einsatz eines hohen Überschusses an *N*-alkyliertem Sulfamid (10 Äquivalente).

Daher wurde eine modifizierte Methode nach JIANG *et al.*¹⁵⁴ für die Synthese der NeuSIG enthaltenden 2-Anilinopyrimidine **31b** und **31f–i** angewendet (Schema 3-12, Tabelle 3-4), wobei katalytische Mengen an Natriumiodid zugesetzt wurden. Durch den Zusatz von Natriumiodid kann *in situ* eine Finkelsteinreaktion stattfinden. Hierbei wird zunächst das Chloratom des Aryloxypropylderivats **45b–**

c durch ein Iodatom substituiert. Das so gebildete Iodintermediat ist reaktiver für den nukleophilen Angriff durch die Anionen der Sulfamide **34b** und **34e–f**. Durch diese modifizierte Vorschrift konnten zwar die Stoffmengenäquivalente an den *N*-alkylierten Sulfamiden **34b** und **34e–f** erniedrigt werden, allerdings wurden auch mit dieser Methode nur niedrige Ausbeuten erhalten.



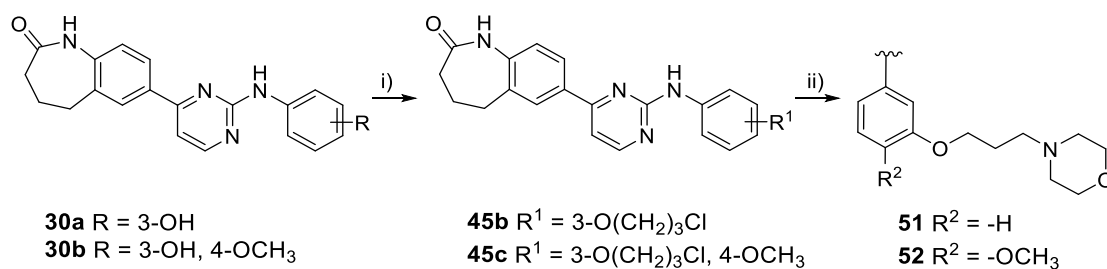
Schema 3-12: Synthese der NeuSIG enthaltenden 2-Anilinopyrimidine **31a–i**. i) 2-Methyl-1,2,5-thiadiazolidin (**34a**), NaH (60%ige Suspension in Paraffinöl), DMF, 0 °C → RT, 24–48 h; ii) Pyrrolidin-1-sulfonamid (**34e**), NaH (60%ige Suspension in Paraffinöl), DMF, 0 °C → 100 °C, 5 h; iii) *N*-alkylierte Sulfamide **34b** und **34e–f**, K₂CO₃, NaI, DMF, 80 °C, 22–51 h; R¹ = H, OCH₃, R² = cyclische Amine.

Tabelle 3-4: Ausbeuten der NeuSIG enthaltenden 2-Anilinopyrimidine **31b** und **31f–i**.

Verbindung	R ¹	R ²	Ausbeute
31b	H		14%
31e	OCH ₃		13%
31f	H		16%
31g	H		34%
31h	OCH ₃		6%
31i	OCH ₃		26%

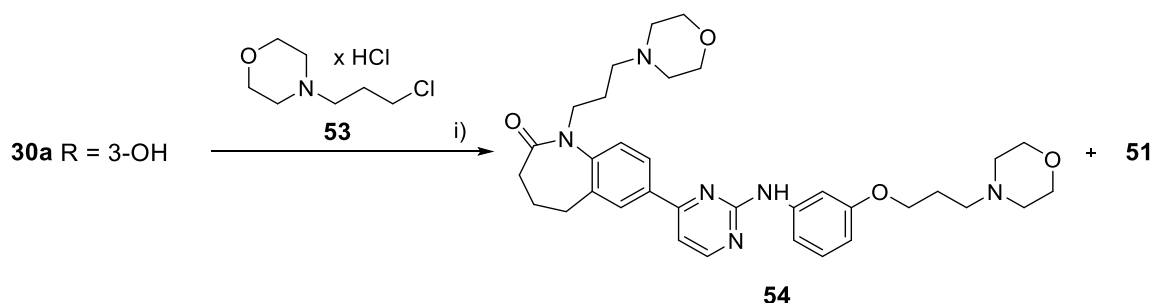
3.2.3 Umsetzung von chloralkylierten Anilinopyrimidinen mit Morpholin

Neben der Einführung von *N*-alkylierten Sulfamiden **34a–h** als NeuSIGs wurde zu Vergleichszwecken ein ionisierbares basisches Strukturelement über eine Etherbrücke an die Strukturen der 2-Anilinopyrimidine **30a–b** angeknüpft. Hierbei konnte eine Morpholinopropylseitenkette über zwei Methoden in die Verbindungen **30a–b** eingeführt werden (Schema 3-13 und 3-14). Bei Methode A wurde nach BOSCHELLI *et al.*¹⁵⁵ das Morpholin über ein Aryloxypropylchloridderivat **45b–c** angeknüpft (**51–52**) (Schema 3-13). Nach einer modifizierten Vorschrift von KNESL *et al.*¹⁵⁶ erfolgte bei Methode B die direkte Umsetzung des 2-Anilinopyrimidins **30a** mit 4-(3-Chlorpropyl)morpholinhydrochlorid (**51**) (Schema 3-14).



Schema 3-13: Einführung einer Morpholinopropylseitenkette in Strukturen der 2-Anilinopyrimidine **30a–b** nach Methode A. i) Cs₂CO₃, 1-Brom-3-chlorpropan (**46**), Acetonitril, Rückfluss, 2–4 h, 22–25%; ii) Morpholin, NaI, 90 °C, 2.5 h, 23–26%.

Bei Anwendung von Methode B wurde statt der gewünschten Verbindung **51** ein Nebenprodukt isoliert, das hinsichtlich der massenspektrometrischen Auswertung einem 2-Anilinopyrimidinderivat mit zwei Morpholinopropylseitenkette entsprach. Eine Isolierung des Produktes **51** gelang nicht. Als Anknüpfungspositionen dieser Seitenketten kommen neben der phenolischen Hydroxygruppe die beiden NH-Gruppen des Edukts **30a** in Betracht.



Schema 3-14: Zweifach substituiertes Produkt beim Versuch der Einführung einer Morpholinopropylseitenkette in das 2-Anilinopyrimidin **30a** nach Methode B. i) K₂CO₃, DMF, 40 °C, 20 min, 80 °C, 5 h, Ausbeute **54** 10%.

Daher wurde das Substitutionsmuster des Nebenproduktes NMR-spektroskopisch untersucht. Das ¹H-¹⁵N-HMBC-Spektrum (*Heteronuclear Multiple Bond Correlation*) bestätigte die postulierte Struktur **54**, bei der die Seitenketten durch Substitution an der Hydroxygruppe und am Lactamstickstoffatom eingeführt worden waren (Abbildung 3-5). Details der Auswertung dieses Spektrums werden im folgenden Abschnitt erklärt.

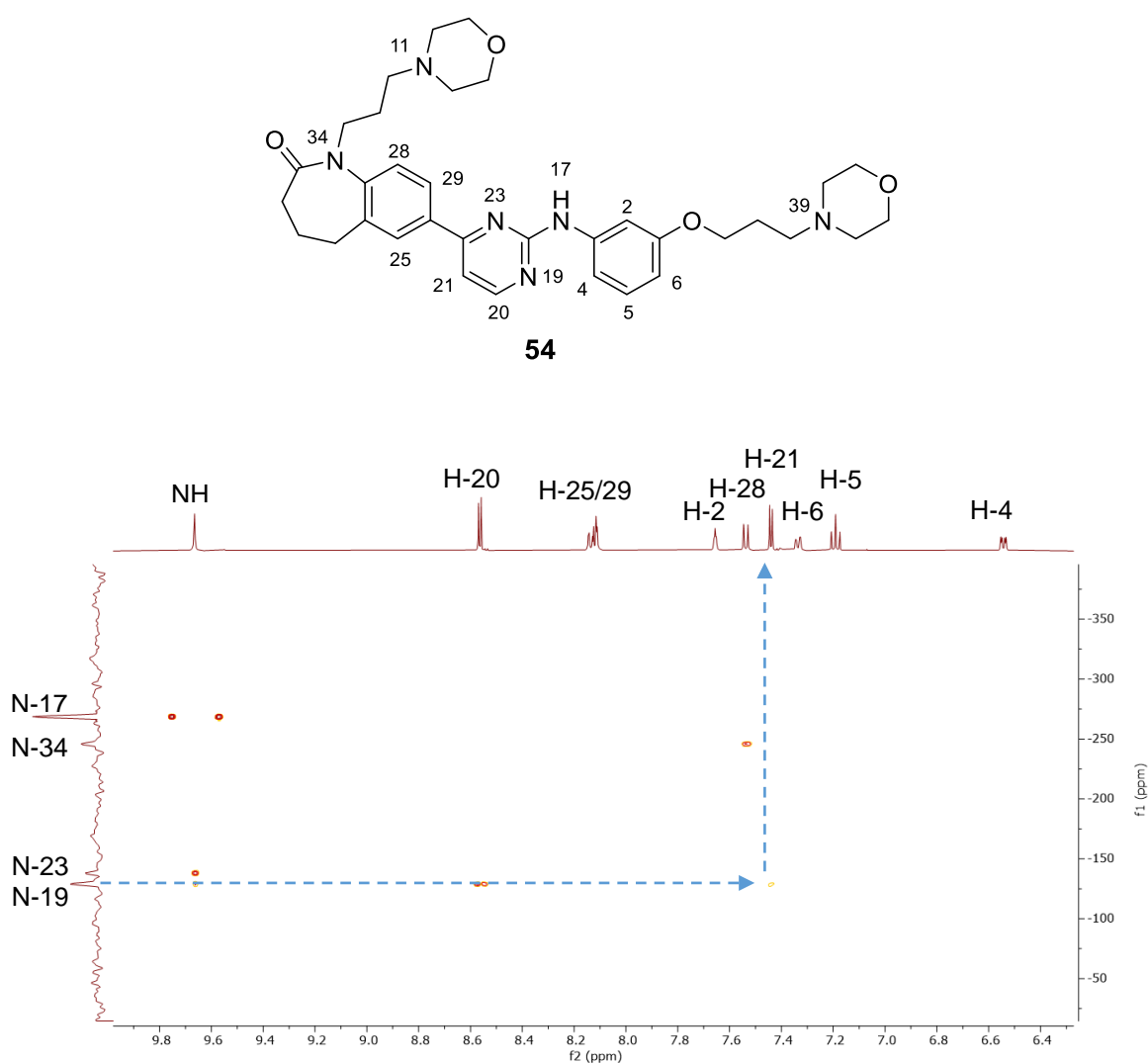


Abbildung 3-5: Ausschnitt aus dem ^1H - ^{15}N -HMBC-Spektrum der Verbindung **54** (Bezifferung nicht nach IUPAC). Das ^{15}N -Signal bei -128 ppm (N-19) entspricht einer 3J -Kopplung zu H-21 (blau gestrichene Pfeile; Hervorheben der schwachen Intensität).

Das ^{15}N -Signal für die NH-Gruppe des Anilinopyrimidin-Motivs (N-17) liegt bei -269 ppm. Neben einer 1J -Korrelation des NH-Protons bei -269 ppm mit einer Kopplungskonstante von 90 Hz zu dem N-Atom werden zwei weitere Korrelationen dieses Protons zu den N-Atomen bei -138 ppm und bei -128 ppm beobachtet. Letzteres N-Atom zeigt einen relativ intensiven Korrelationspeak zu H-20, der für eine 2J -Kopplung spricht und einen schwächeren Korrelationspeak für eine 3J -Kopplung zu H-21. Dieser Stickstoff ist demnach der N-19 Position zuzuordnen, während N-23 bei -138 ppm keine Korrelation zu diesen Protonen aufweist. Daher entspricht die NH-Gruppe in Position N-17 dem N-Atom bei -269 ppm, obwohl mögliche Korrelationen zu den H-Atomen an Position 2 und

4 nicht beobachtet werden. Das Stickstoffatom der Benzazepin-2-onpartialstruktur (N-34, -246 ppm) zeigt einen Korrelationspeak zu H-28. Aufgrund der fehlenden 1J -Kopplung zu einem NH-Proton ergibt sich, dass dieses Stickstoffatom tertiär ist. Bei -337 ppm lässt sich darüber hinaus ein schwacher Korrelationspeak eines Stickstoffatoms zu einer CH_2 -Gruppe detektieren. Vermutlich handelt es sich hier um die Stickstoffatome der Morpholinpartialstruktur N-11 und N-39 (Abbildung 3-6).

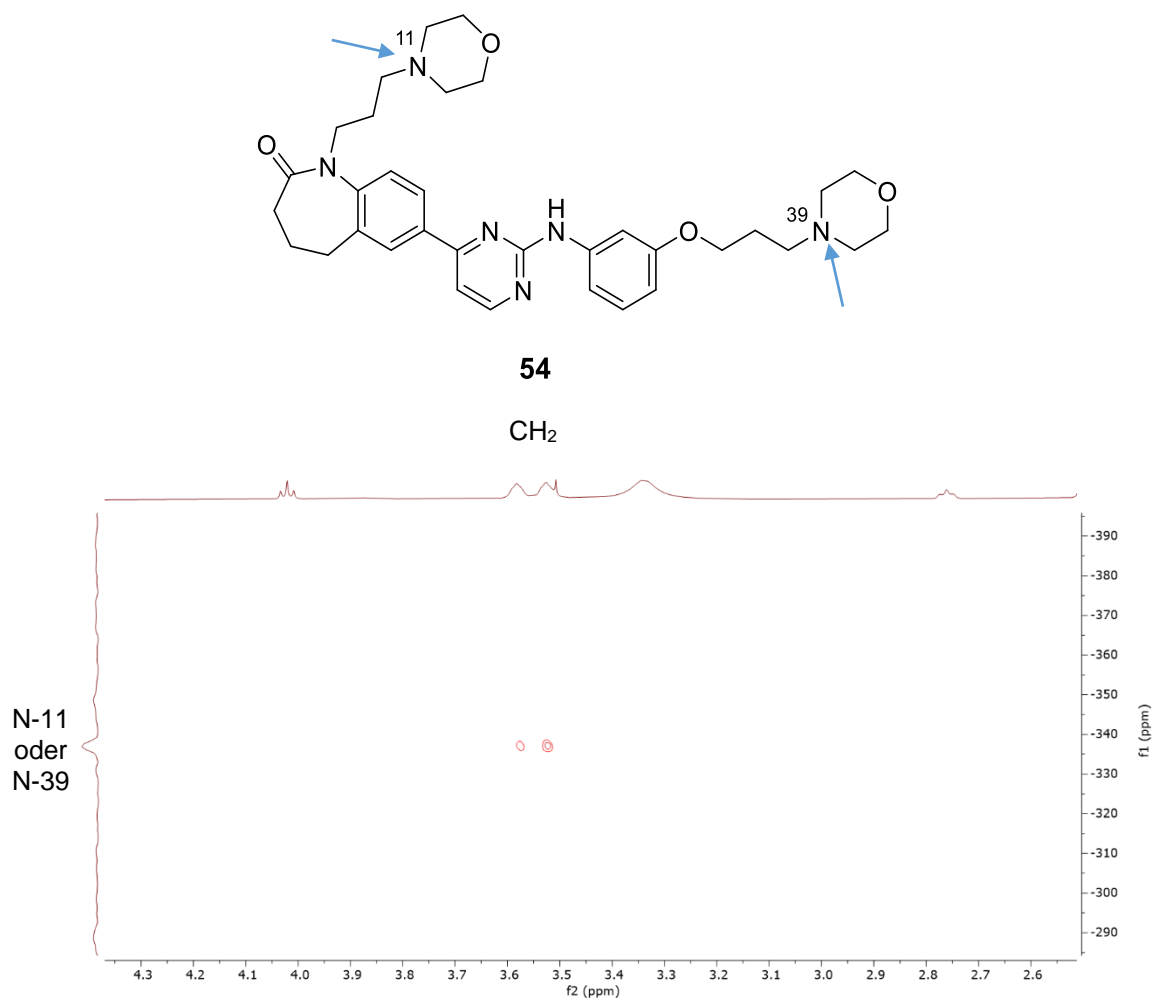
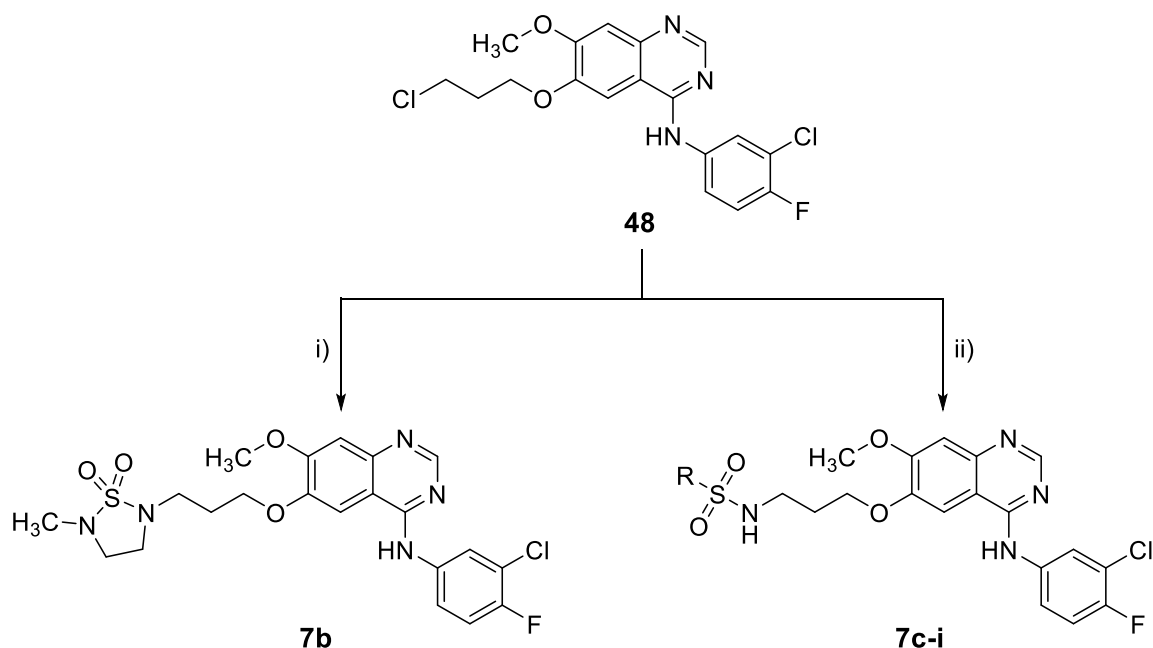


Abbildung 3-6: Ausschnitt aus dem ^1H - ^{15}N -HMBC-Spektrum der Verbindung **54** (Bezeichnung nicht nach IUPAC).

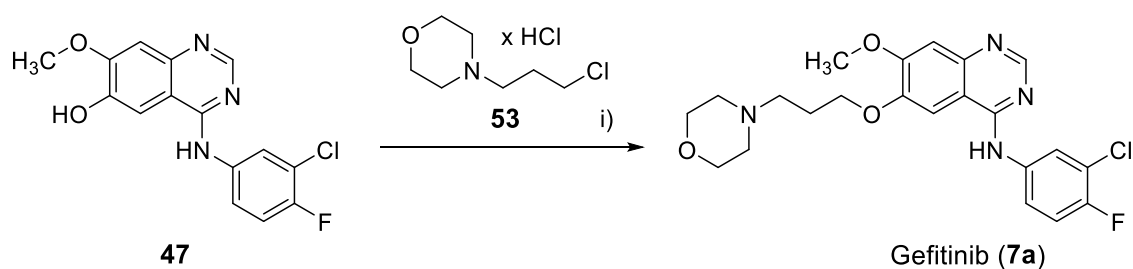
3.2.4 Verknüpfung von NeuSIGs mit einem Anilinochinazolin

Unter basischen Bedingungen erfolgte die Umsetzung des Aryloxypropylchloridderivats **48** mit dem cyclischen Sulfamid **34a** zu **7b** (Schema 3-15). Die Synthese erfolgte nach einer modifizierten Vorschrift von KIM *et al.*¹⁴² bei Raumtemperatur.



Schema 3-15: Synthese der NeuSIG enthaltenden Anilinochinazoline **7b–i**. i) 2-Methyl-1,2,5-thiadiazolidin-1,1-dioxid (**34a**), NaH (60%ige Suspension in Paraffinöl), DMF, 0 °C → RT, 48 h, 54%; ii) *N*-alkyliertes Sulfamid (**34b–i**), NaH (60%ige Suspension in Paraffinöl), DMF, 0 °C → 100 °C, 2–15 h, 11–62%.

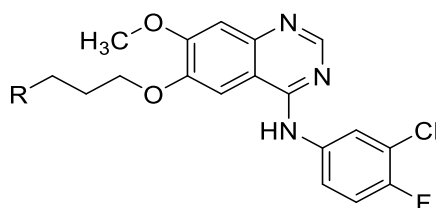
Die Anknüpfung der *N*-alkylierten Sulfamide **34b–i** an **48** erfolgte unter ähnlichen Bedingungen, aber bei erhöhter Temperatur. Erst durch Erwärmen auf 100 °C konnte eine Umsetzung zu den *N*-alkylierten Sulfamid enthaltenden Anilinochinazolinderivaten **7c–i** dünnschichtchromatographisch detektiert werden (Schema 3-15 und Tabelle 3-5).



Schema 3-16: Synthese von Gefitinib (**7a**). i) Cs₂CO₃, DMF, 40 °C → 80 °C, 10 h, 64%.

Zu Vergleichszwecken wurde auch Gefitinib (**7a**) nach einer modifizierten Vorschrift von KNESL *et al.*¹⁵⁶ synthetisiert (Schema 3-16). Dabei wurde im Rahmen einer nukleophilen Substitution durch 4-[(3-Chlor-4-fluorphenyl)amino]-7-methoxychinazolin-6-ol (**47**) an 4-(3-Chlorpropyl)morpholinhydrochlorid (**53**) unter basischen Bedingungen die Verbindung **7a** erhalten.

Tabelle 3-5: Ausbeuten der NeuSIG enthaltenden Anilinochinazoline **7b–i**.



Verbindung	R	Ausbeute
7b		54%
7c		40%
7d		20%
7e		62%
7f		26%
7g		38%
7h		18%
7i		11%

Das NeuSIG enthaltende Anilinochinazolin **7d** enthält eine *N,N'*-disubstituierte Piperazinpartialstruktur, deren NMR-spektroskopische Besonderheiten im Folgenden beschrieben werden.

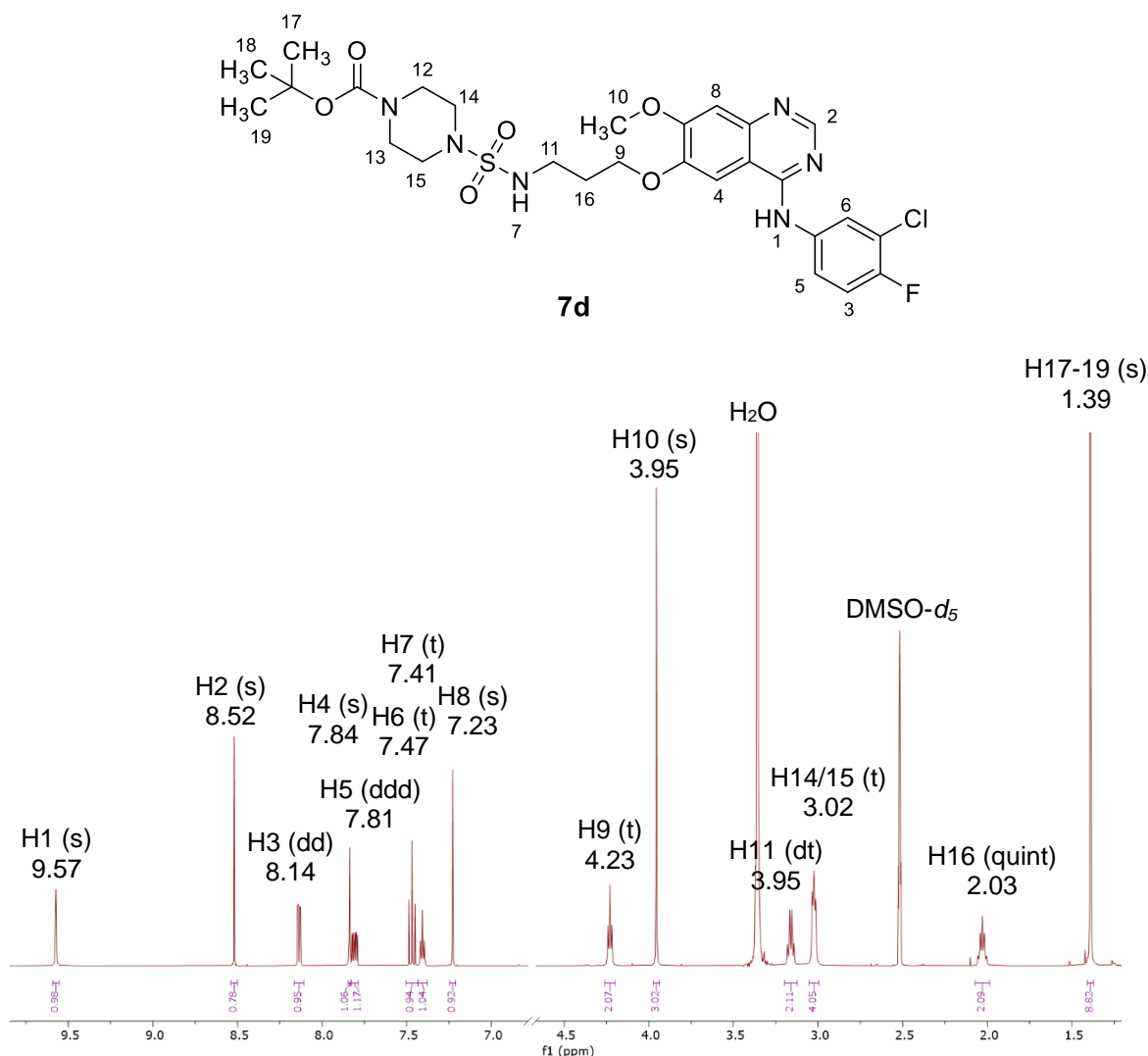


Abbildung 3-7: ^1H -NMR-Spektrum (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) der Verbindung **7d** (Bezeichnung nicht nach IUPAC). Das H_2O -Signal überdeckt die Signale der Protonen an Position 12 und 13.

Im ^1H -NMR-Spektrum von **7d** (Abbildung 3-7) befinden sich die aromatischen Protonen im tiefen Feld und rufen die Signale zwischen 7.23 und 8.52 ppm hervor. Das H-Atom am Stickstoff der Anilinostruktur zeigt ein Singulett bei 9.57 ppm, während das H-Atom des Sulfamids ein Triplet aufweist. Letzteres wird durch eine Kopplung zu den Protonen der benachbarten CH_2 -Gruppe (H11) hervorgerufen. Diese CH_2 -Gruppe wiederum koppelt mit den Protonen in ihrer Umgebung und zeigt ein Dublett vom Triplet in Form eines „Quartetts“ bei 3.95 ppm. Die Protonen H16 der CH_2 -Gruppe des Propyllinkers zeigen ein Quintett im hohen Feld. Die

Signale der Protonen der CH₂-Gruppe (H9) und der Methylgruppe (H10), die ein Sauerstoffatom in ihrer Umgebung aufweisen, erscheinen aufgrund der stärkeren Entschirmung im tieferen Feld und stellen sich als Triplet (H9) bzw. Singulett (H10) dar. Das Singulett bei 1.39 ppm entspricht den neun Protonen der *tert*-Butyl-Gruppe (H17–19). Die Protonen an H14 und H15 der Piperazinpartialstruktur ergeben ein Triplet bei 3.02 ppm. Die fehlenden Signale der Protonen an Position 12 und 13 befinden sich unter dem H₂O-Signal, wie durch ein ¹H,¹³C-HSQC-Experiment (*Heteronuclear Single Quantum Coherence*) gezeigt werden konnte (Abbildung 3-8). In diesem 2D-Spektrum konnten auch die zugehörigen C-Atome, welche im eindimensionalen ¹³C-Spektrum im Rauschen untergehen und in direkter Nachbarschaft zur Carbamatstruktur vorliegen, ermittelt werden.

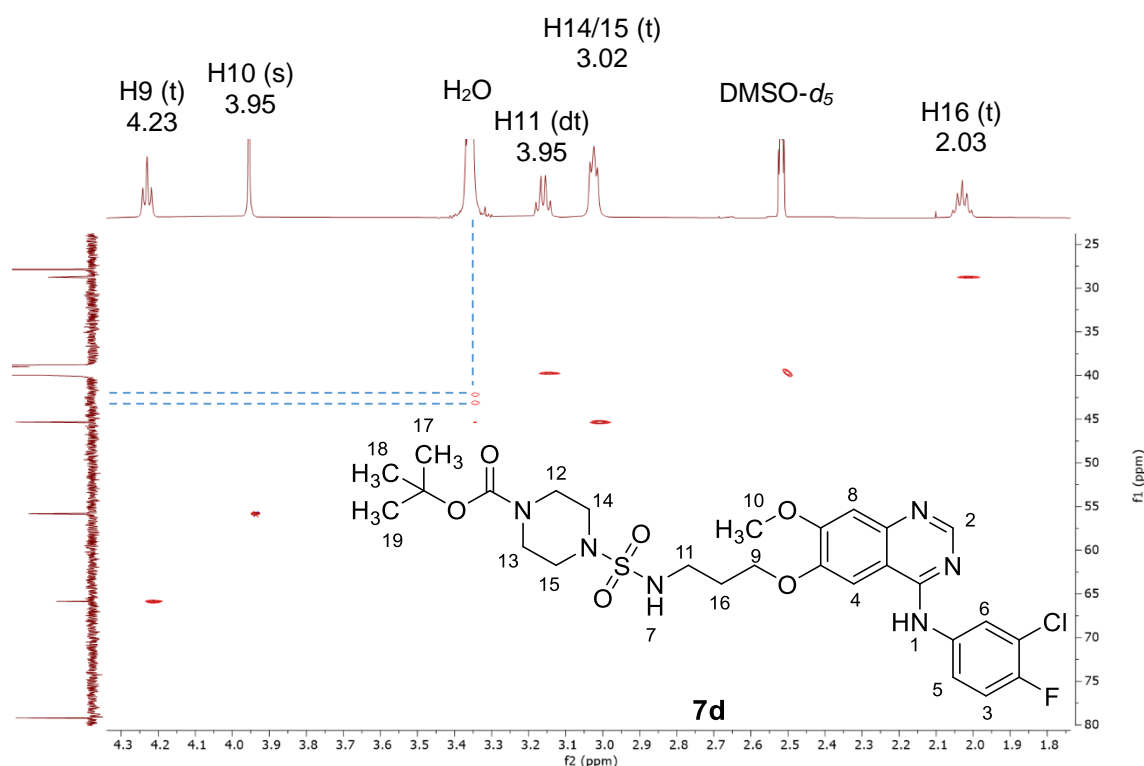


Abbildung 3-8: Ausschnitt aus dem ¹H,¹³C-HSQC-Spektrum der Verbindung **7d** (Bezifferung nicht nach IUPAC).

Die schwache Verbreiterung der Signale von Atomen im Piperazinring kann einerseits aus einer Verlangsamung der Ringinversion resultieren, was dazu führt, dass die Koaleszenztemperatur dieser Signale in der Nähe der Aufnahmetemperatur der Spektren liegt. Dieser Effekt wird durch die großen Substituenten am Stickstoff gefördert. Andererseits kann die Signalverbreiterung

auch durch die Beteiligung des Carbamat-Stickstoffs an einer partiellen Doppelbindung zur Carbonylgruppe hervorgerufen werden. Die dadurch bedingte Einschränkung der freien Drehbarkeit um diese C-N-Bindung ist auch dafür verantwortlich, dass für C12 und C13 zwei statt eines gemittelten Signals gefunden wurden (Abbildung 3-9 und 3-10).¹⁵⁷ Ebenso vorstellbar wäre auch die Ausbildung einer partiellen Doppelbindung in der Sulfamid-Teilstruktur.

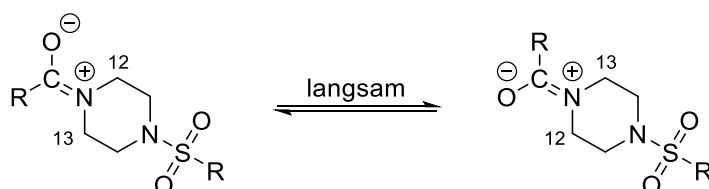


Abbildung 3-9: Eingeschränkte Drehbarkeit um die C-N-Bindung der Urethanstruktur in **7d** führt zu unterschiedlichen Signalen von C12 und C13. Modifiziert nach MAMAT *et al.*¹⁵⁷

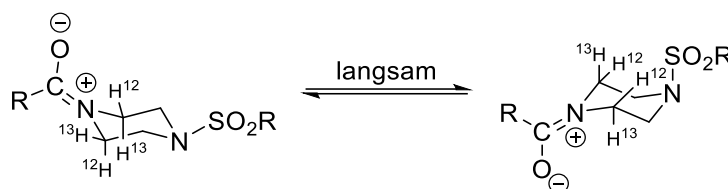


Abbildung 3-10: Verlangsamte Ringinversion führt zu verbreiteten Signalen der Protonen H¹² und H¹³ (unter dem Wassersignal im ¹H-NMR-Spektrum) und der daran gebundenen C-Atome in **7d**. Modifiziert nach MAMAT *et al.*¹⁵⁷

4 Acidität von Sulfamiden

Die *N*-alkylierten Sulfamide **34b–h** können dann als NeuSIGs bezeichnet werden, wenn sie einerseits tatsächlich die Löslichkeit von Wirkstoffmolekülen verbessern und andererseits bei einem physiologischen pH-Wert nicht ionisiert vorliegen. Um dieses zu beurteilen, ist die Kenntnis der Säuredissoziationskonstante K_s erforderlich. Der pK_s -Wert spiegelt die Säurestärke einer Verbindung wider und kann mittels Potentiometrie oder mit UV/VIS-spektroskopischen Methoden bestimmt werden.¹⁵⁸

$$pK_s = -\log (K_s) \quad (\text{Gleichung 4-1})$$

Berechnet wird der pK_s -Wert aus dem negativ dekadischen Logarithmus der Säurekonstante K_s (Gleichung 4-1), welche nach dem Massenwirkungsgesetz eine Gleichgewichtskonstante bei der Reaktion der Verbindung (H-A) mit Wasser zu dem entsprechenden Anion (A^- , konjugierte Base) und Hydroniumion (H_3O^+) beschreibt. Die Gleichung 4-2 ergibt sich aus dem Ausmaß der Dissoziation (Dissoziationskonstante K) der jeweiligen Reaktionspartner in einer wässrigen Lösung. Hierbei werden die Aktivitäten (a) der Edukte und Produkte berücksichtigt (Gleichung 4-2). Bei geringen Konzentrationen, die bei verdünnten Lösungen vorliegen, entsprechen die Aktivitäten der Edukte und Produkte näherungsweise der jeweiligen Konzentration. Weiterhin ist die Konzentration von Wasser konstant, sodass dieser Wert in die Berechnung der Säuredissoziationskonstante K_s einbezogen werden kann (Gleichung 4-3).

$$K = \frac{a(A^-) \times a(H_3O^+)}{a(H-A) \times a(H_2O)} \quad (\text{Gleichung 4-2})$$

$$K_s \approx \frac{c(A^-) \times c(H_3O^+)}{c(H-A)}, c = \text{klein und } c(H_2O) \text{ konstant} \quad (\text{Gleichung 4-3})$$

Das Umstellen der Gleichung 4-3 nach der Konzentration an Hydroniumionen und das negative Logarithmieren ergibt die Henderson-Hasselbalch-Gleichung (Gleichungen 4-4 und 4-5), die das Konzentrationsverhältnis zwischen einer schwachen Säure und deren konjugierter Base bei einem bestimmten pH-Wert (Gleichung 4-4) beschreibt.

$$pH = -\log c(H_3O^+) = -\log(K_s) - \log \frac{c(H-A)}{c(A^-)} \quad (\text{Gleichung 4-4})$$

$$pH = pK_s - \log \frac{c(H-A)}{c(A^-)} \quad (\text{Gleichung 4-5})$$

Die Bestimmung des pK_s -Werts wurde für die Verbindung **34b** experimentell durchgeführt. Bei dieser Verbindung ist eine primäre Aminogruppe ($-NH_2$) vorhanden, von der nach Monoalkylierung eine NH-Gruppe verbleibt. Um den Einfluss der Alkylierung und damit den Unterschied zwischen primären und sekundären Sulfamidstrukturen abzuschätzen, wurden vor der experimentellen Bestimmung die theoretischen pK_s -Werte (cpK_s) für **34b** und **55** mit MarvinSketch¹⁵⁹ vorhergesagt (Abbildung 4-1). Die berechneten cpK_s -Werte liegen mit einem Unterschied von 0.1 cpK_s -Einheiten sehr nahe beieinander, sodass für die experimentelle Bestimmung das primäre Sulfamid **34b** herangezogen wurde.

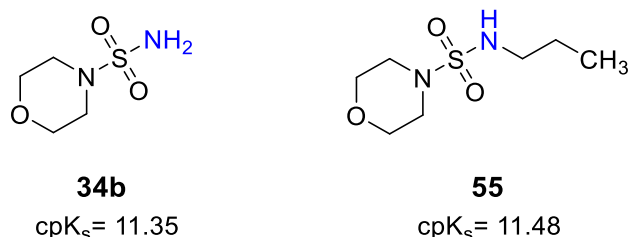


Abbildung 4-1: Mit MarvinSketch (Version 17.2.20.0)¹⁵⁹ berechnete cpK_s -Werte der einfachen Deprotonierung der blau markierten NH_2 - bzw. NH -Gruppe von **34b** und **55**.

Für die experimentelle Bestimmung des pK_s -Werts wurde **34b** in Wasser gelöst und mit einer geringen Menge 0.1 M Salzsäure (HCl) versetzt, sodass das Gleichgewicht nach Abbildung 4-2 (A) auf Seiten der protonierten Form lag. Anschließend wurde eine Titration mit wässriger 0.1 M Natriumhydroxidlösung (NaOH) unter Verwendung einer pH-Glaselektrode durchgeführt (Abbildung 4-2). Dabei stellen die Äquivalenzpunkte die Bereiche mit der höchsten Steigung in einer Titrationskurve dar. Der erste Äquivalenzpunkt entspricht der Stoffmenge der zugesetzten 0.1 M HCl. Die Differenz zwischen dem ersten und zweiten Äquivalenzpunkt stellt die äquimolare Stoffmenge an 0.1 M NaOH zu der Stoffmenge der Verbindung **34b** dar. Hier liegt eine vollständige Umsetzung zu **56**

vor. Für die exakte Ermittlung der Äquivalenzpunkte wurden die pH-Differenzen gegen das Volumen der zugesetzten Natriumhydroxidlösung aufgetragen (Abbildung 4-3). In dieser Ableitung wurden zwei Maxima festgestellt. Während das erste Maximum (1.4 mL) dem Äquivalenzpunkt der vor der Titration zugegebenen 0.1 M HCl entspricht, ergibt sich der Äquivalenzpunkt der Verbindung **34b** aus der Differenz der beiden Maxima (10.1 mL).

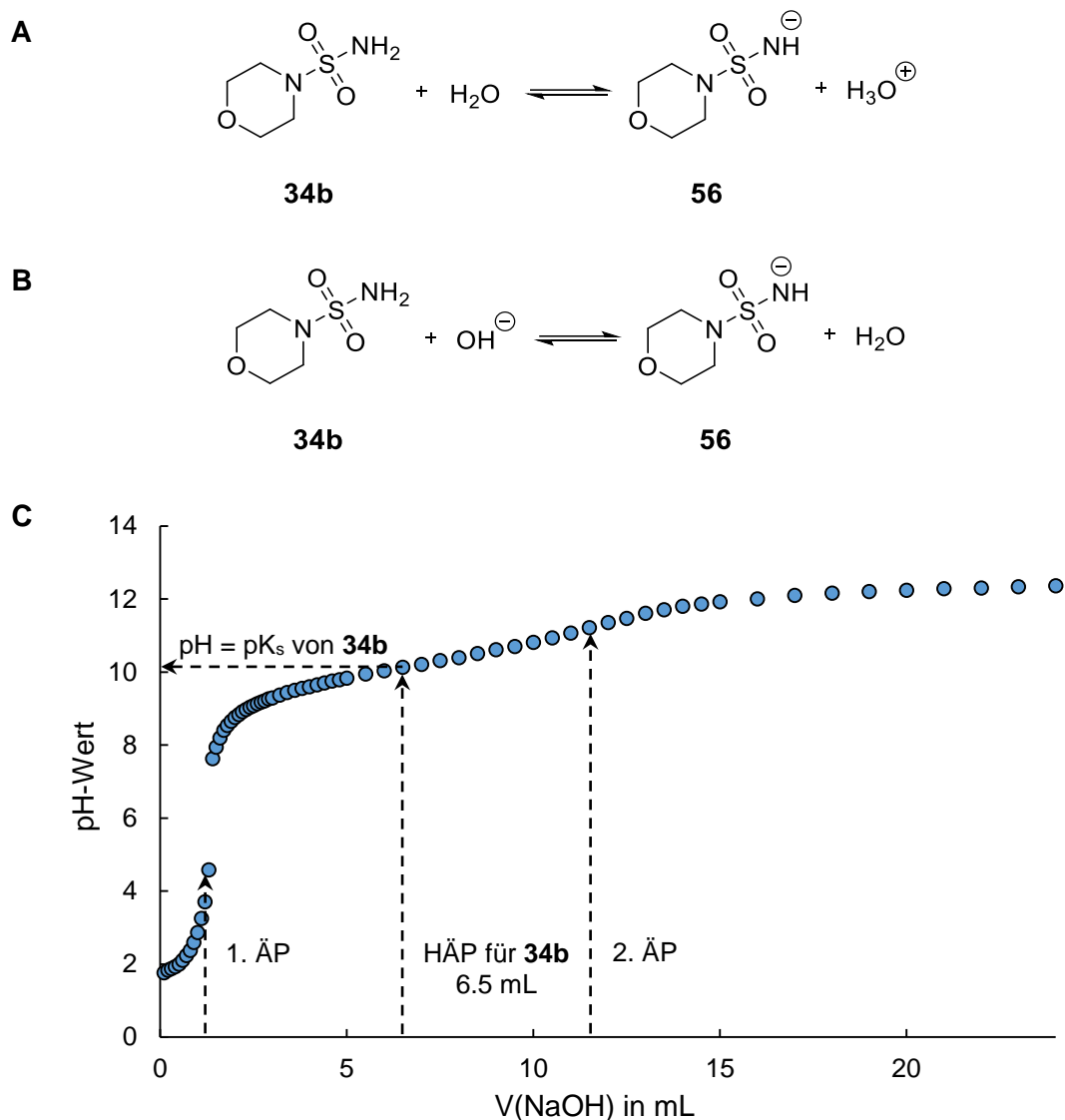


Abbildung 4-2: **A:** Protolyse von **34b** in Wasser. **B:** Deprotonierung von **34b** durch Hydroxid-Ionen. **C:** Titrationskurve der Verbindung **34b**. Aufgetragen ist das Volumen der 0.1 M NaOH (mL) gegen den pH-Wert. Mit Pfeilen markiert sind die Äquivalenzpunkte (ÄP) und der Halbäquivalenzpunkt (HÄP) für **34b**.

Für die Ermittlung des pK_s -Werts wird die Henderson-Hasselbalch-Gleichung (Gleichung 4-6) herangezogen. Bei Vorliegen gleicher Konzentrationen einer Verbindung in der nicht-dissoziierten ($H-A$) und in der dissoziierten (A^-) Form entspricht der pH-Wert dem pK_s -Wert einer Verbindung (Gleichung 4-7 und 4-8). Dieser pH-Wert liegt bei einem Titrationsgrad von 0.5 vor.

$$pH \approx pK_s - \log \frac{c(H-A)}{c(A^-)} \text{ mit } c(H-A) = c(A^-) \quad (\text{Gleichung 4-6})$$

$$pH = pK_s - \log (1) \quad (\text{Gleichung 4-7})$$

$$pH = pK_s \quad (\text{Gleichung 4-8})$$

Übertragen auf die Reaktionsgleichung in Abbildung 4-2 liegen am Halbäquivalenzpunkt gleiche Stoffmengen der Verbindungen **34b** und **56** vor. Bis zu dem Halbäquivalenzpunkt wird die Hälfte der zugesetzten 0.1 M NaOH verbraucht. Das Volumen der verbrauchten Natriumhydroxidlösung am Halbäquivalenzpunkt (HÄP) ergibt sich aus der Kenntnis der Volumina der zwei Äquivalenzpunkte (ÄP) (Abbildung 4-2).

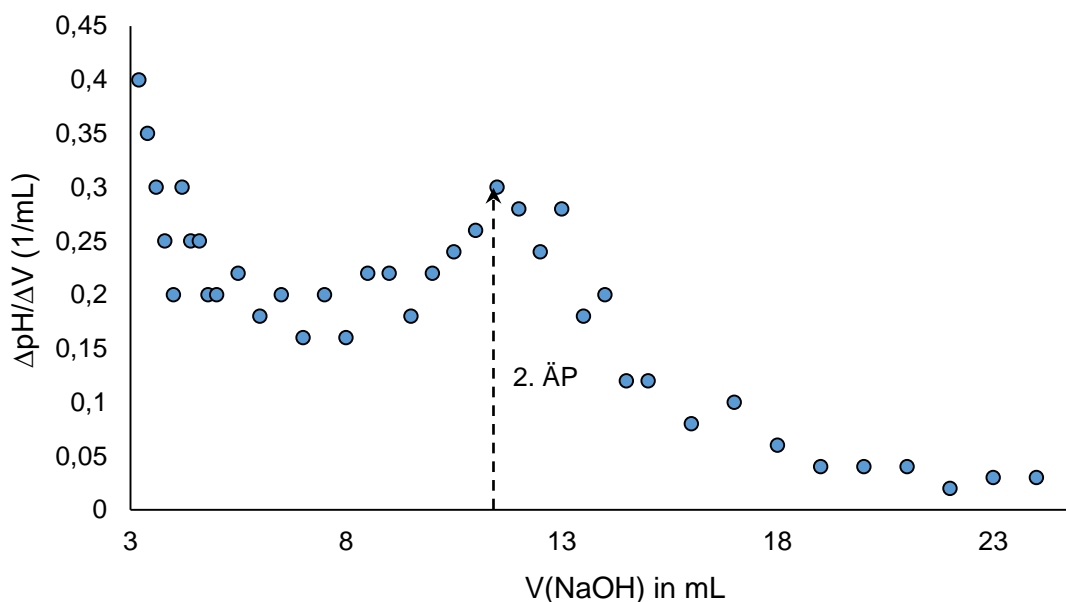


Abbildung 4-3: Die pH-Differenzen $\Delta pH/\Delta V$ (1/mL) wurden gegen das Volumen der zugesetzten Natriumhydroxidlösung (mL) aufgetragen. Dargestellt ist das Maximum (11.5 mL) des 2. Äquivalenzpunkts (Pfeil) aus der Titrationskurve in Abbildung 4-2.

Nach Gleichung 4-9 wurde bis zum Halbäquivalenzpunkt ein Volumen von 6.5 mL 0.1 M NaOH zur Neutralisation der Hälfte der eingesetzten Stoffmenge von **34b** verbraucht. Aus der Titrationskurve in Abbildung 4-2 lässt sich ein pH-Wert von 10.1 ablesen, welcher nach Gleichung 4-8 dem pK_s -Wert der Verbindung **34b** entspricht.

$$V_{NaOH,H\ddot{A}P} = \left(\frac{V_{NaOH,2.\ddot{A}P} - V_{NaOH,1.\ddot{A}P}}{2} \right) + V_{NaOH,1.\ddot{A}P}$$

(Gleichung 4-9)

$$= \frac{11.5 \text{ mL} - 1.4 \text{ mL}}{2} + 1.4 \text{ mL} \approx 6.5 \text{ mL}$$

Bei einem physiologischen pH-Wert von 7.4 liegt damit nach der Henderson-Hasselbalch-Gleichung (Gleichung 4-6) der Anteil der deprotonierten Form **56** gegenüber der neutralen Form **34b** bei 0.2% (Gleichung 4-10).

$$pH \approx pK_s - \log \frac{c(HA)}{c(A^-)}$$

$$7.4 \approx 10.1 - \log \frac{c(HA)}{c(A^-)}$$

(Gleichung 4-10)

$$2.7 \approx \log \frac{99.8}{0.2}$$

Bei einem physiologischen pH-Wert liegt das Morphin-4-sulfonamid (**34b**) zu 99.8% in der neutralen Form vor. Demzufolge erscheinen die mit MarvinSketch¹⁵⁹ vorhergesagten pK_s -Werte für Sulfamide wie **34b** oder **55** als etwas zu hoch, jedoch in einer realistischen Größenordnung. Es ist daher gerechtfertigt, auch sekundäre Sulfamide, die noch ein dissoziierbares Proton aufweisen, als „neutrale“ Strukturelemente zu bezeichnen.

5 Biologische Aktivität neuer Wirkstoffe

Die NeuSIG-verknüpften Anilinopyrimidine **31a–d** und **31f–i** und die Anilinochinazoline **7b–h** wurden hinsichtlich ihrer biologischen Aktivität untersucht. Getestet wurden die inhibitorischen Aktivitäten für die Anilinopyrimidine u. a. gegenüber der Aurora-Kinase A und B, während die Anilinochinazoline u. a. gegenüber EGFR getestet wurden. Die Bestimmung der Aktivitäten erfolgte unter Anwendung eines radiometrischen Proteinkinase-Assays durch die ProQinase GmbH (Freiburg, Deutschland) unter der Leitung von Dr. Michael Kubbutat.

Weiterhin wurde die Zytotoxizität der NeuSIG enthaltenden Anilinochinazoline **7b–h** gegenüber vier humanen Krebszelllinien im Arbeitskreis von Prof. Dr. Ingo Ott (Braunschweig, Deutschland) untersucht. Hierbei wurde durch ein Kristallviolett-Assay die Viabilität der Krebszellen ermittelt und so die zytotoxischen Eigenschaften der Verbindungen bestimmt.

Für die Enzym-inhibitorischen Aktivitäten und die zytotoxischen Eigenschaften der getesteten Verbindungen wurden jeweils IC₅₀-Werte ermittelt. Der IC₅₀-Wert (engl. *half maximal inhibitory concentration*) entspricht derjenigen Konzentration der getesteten Verbindungen, bei der die Aktivität der Enzyme oder die Viabilität um 50% verringert wird. Verbindungen mit IC₅₀-Werten unter 100 µM wurden als aktiv gegenüber der Proteinkinase bzw. der humanen Krebszelllinie eingestuft. Dabei wurde insbesondere der Einfluss der NeuSIGs auf Strukturen analog zu den Anilinopyrimidinen **30a**, **30c** und **30e** und der Anilinochinazoline analog zu Gefitinib (**7a**) untersucht. Durch die Einführung von NeuSIGs sollten die biologischen Aktivitäten gegenüber den Targets möglichst beibehalten oder verbessert werden.

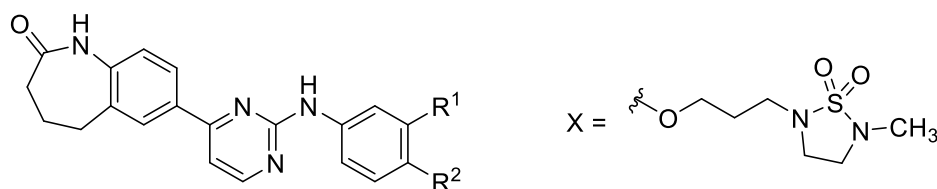
5.1 Proteinkinase-inhibitorische Aktivität

5.1.1 Anilinopyrimidine

Die inhibitorischen Aktivitäten der Anilinopyrimidine **30a**, **30c** und **30e** und der NeuSIG-verknüpften Verbindungen **31a** und **31d** wurden an den Aurora-Kinasen A und B und an zwei Cyclin-abhängigen Kinasen (engl. *cyclin-dependent kinase*, CDK; *cyclin-dependent kinase and cyclin type*, CDK/Cyc-Typ) getestet

(Tabelle 5-1). Das unsubstituierte 2-Anilinopyrimidin **30c** zeigte eine mikromolare inhibitorische Aktivität gegenüber den Aurora-Kinasen A und B. Weiterhin konnte eine inhibitorische Aktivität im gleichen Konzentrationsbereich auf die Cyclin-abhängige Kinase der CDK9/CycT1 festgestellt werden. Die Einführung einer Hydroxygruppe in Position 3 und 4 der Anilinpartialstruktur von **30a** und **30e** führte im Vergleich zur unsubstituierten Verbindung **30c** zu einer leichten Erniedrigung der IC_{50} -Werte an der Aurora-Kinase A, jedoch verschlechterte sich die Selektivität gegenüber der Aurora-Kinase B. Zudem wiesen **30a** und **30e** inhibitorische Aktivitäten an der CDK2/CycE1 und CDK9/CycT1 im mikromolaren Bereich auf.

Tabelle 5-1: Proteinkinase-inhibitorische Aktivitäten der Anilinopyrimidine **30a**, **30c** und **30e** und der mit einem cyclischen Sulfamid verknüpften Verbindungen **31a** und **31d** unter Angabe der IC_{50} -Werte (μ M, Einfachbestimmung).

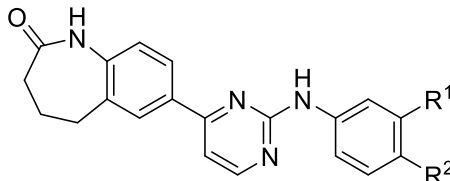
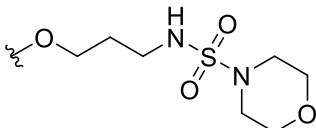
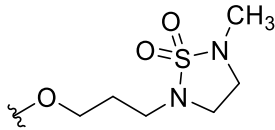
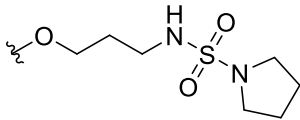
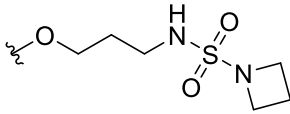
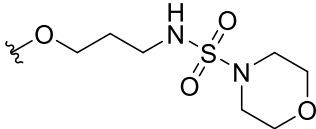
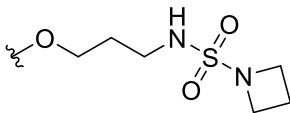
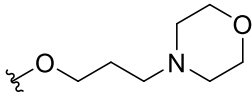
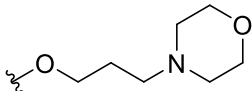


	R ¹	R ²	IC ₅₀ (μ M)			
			Aurora-Kinase A	Aurora-Kinase B	CDK2/CycE1	CDK9/CycT1
30a	OH	H	3.5	4.9	3.5	2.0
30c	H	H	3.6	7.1	>10	7.0
30e	H	OH	2.9	2.7	2.3	2.5
31a	X	H	1.8	5.5	>10	>10
31d	H	X	3.0	9.7	>10	9.4

Die mit einem cyclischen Sulfamid **34a** als NeuSIG versehenen Verbindungen **31a** und **31d** zeigten im Vergleich zur Grundstruktur **30c** einen Erhalt der inhibitorischen Aktivität gegenüber den Aurora-Kinasen A und B. Wie bei **30c** konnte auch bei den mit NeuSIGs dekorierten Analoga eine geringfügige Selektivität gegenüber der Aurora-Kinase B erreicht werden. So zeigten die Verbindungen **31a** und **31d** eine dreifach stärkere Inhibition der Aurora-Kinase A

im Vergleich zu der Aurora-Kinase B. Die mit phenolischen Hydroxygruppen substituierten Verbindungen **30a** und **30e** hemmten die getesteten Cyclin-abhängigen Kinasen deutlich stärker als die Grundstruktur **30c** und die NeuSIG-verknüpften Analoga **31a** und **31d**.

Tabelle 5-2: Inhibitorische Aktivität der Anilinopyrimidine **31b–c**, **31f–i**, **51** und **52** gegenüber der Aurora-Kinase A unter Angabe der IC₅₀-Werte (μM, Einfachbestimmung).

			
	R ¹	R ²	Aurora-Kinase A
31b		H	3.0
31c		OCH ₃	1.1
31f		H	4.5
31g		H	1.5
31h		OCH ₃	2.5
31i		OCH ₃	0.82
51		H	2.0
52		OCH ₃	1.5

Die NeuSIG enthaltenden Anilinopyrimidine **31b–c** und **31f–i** bzw. die mit einer Morpholinopropylteilstruktur versehenen Anilinopyrimidine **51** und **52** ergaben einen Erhalt der kinaseinhibitorischen Aktivität gegenüber der Aurora-Kinase A. Gegenüber dem Prototyp **30c** wurde durch die Einführung von Substituenten insgesamt eine Optimierung der Kinaseinhibition erzielt. Hervorzuheben ist hierbei die Verbindung **31i**, die im Vergleich zu **30c** einen um den Faktor drei verbesserte inhibitorische Aktivität gegenüber der Aurora-Kinase A aufwies (Tabelle 5-2).

Durch die *docking*-Untersuchungen wurden für NeuSIG enthaltende Anilinopyrimidine wie **31a** Bindemodi innerhalb der ATP-Bindetasche der Aurora-Kinase A ermittelt, bei denen das NeuSIG stets dem Lösemittel zugewandt war. Wie eine Röntgenstrukturanalyse zeigte, wird die ATP-Bindetasche der Aurora-Kinase A von **30c** nahezu vollständig ausgefüllt. Unter der Annahme einer analogen Pose belegt die NeuSIG-Partialstruktur der modifizierten Verbindung **31a** im Eingangsbereich zur ATP-Bindetasche die *solvent accessible region* (Abbildung 5-1).

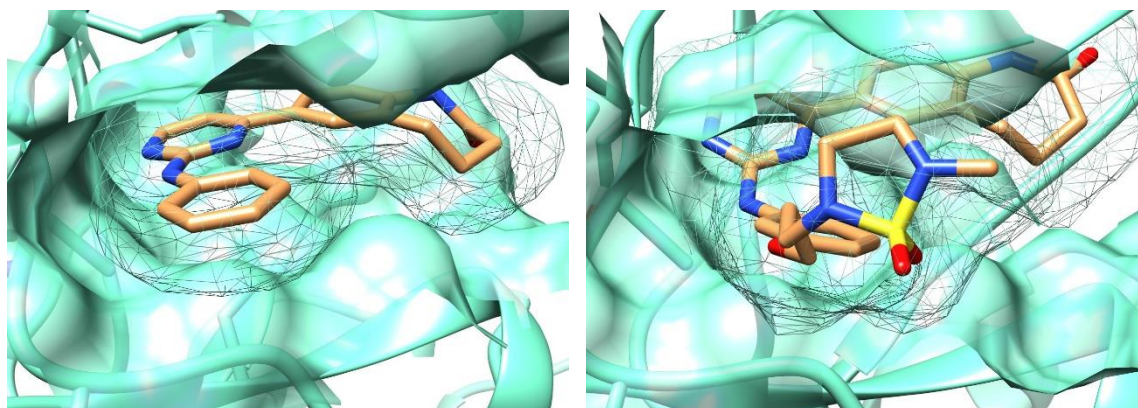


Abbildung 5-1: Bindemodus und Oberflächendarstellung in der nicht publizierten Kokristallstruktur der Verbindung **30c** (links, sandbraun) in der Aurora-Kinase A und *docking*-Ergebnis der Verbindung **31a** (rechts, sandbraun) in einer nicht publizierten Kokristallstruktur der Verbindung **30b** in der Aurora-Kinase A (aquamarin).

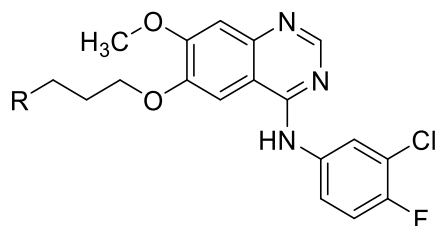
Zusammenfassend lässt sich sagen, dass durch die Einführung der NeuSIGs wie bei **31a** und **31d** die inhibitorischen Aktivitäten an den Aurora-Kinasen und die Selektivität gegenüber den Cyclin-abhängigen Kinasen im Vergleich zur unsubstituierten Grundstruktur **30c** nahezu unverändert bleibt.

5.1.2 Anilinochinazoline

Die Bestimmung der biologischen Aktivitäten der Anilinochinazoline **7a–h** erfolgte an vier Proteinkinasen: dem pharmakologisch relevanten Target EGFR sowie zum Vergleich den Kinasen ABL1 (engl. *Abelson murine leukemia viral oncogene homolog 1*), CDK8/CycC und VEGFR-2 (engl. *vascular endothelial growth factor receptor-2*) (Tabelle 5-3). Der dieser Studie zugrunde liegende Arzneistoff Gefitinib (**7a**) wies eine Proteinkinase-inhibitorische Aktivität im zweistellig mikromolaren Bereich gegenüber der ABL1 und VEGFR-2 auf, während sie gegen CDK8/CycC inaktiv war. Eine sehr hohe Aktivität zeigte **7a** an EGFR mit einem IC_{50} -Wert von $0.00024 \mu\text{M}$. Die Substitution der Position 6 an Gefitinib (**7a**), in der die Morpholinopropylpartialstruktur mit verschiedenen *N*-alkylierten Sulfamiden **34a–g** ersetzt wurde, führte erwartungsgemäß ebenfalls zu EGFR-Inhibitoren. Innerhalb der Gruppe der NeuSIG enthaltenden Anilinochinazoline repräsentieren die Verbindungen **7b** und **7f–g** die potentesten EGFR-Inhibitoren mit IC_{50} -Werten im dreistellig picomolaren Bereich. Sie sind damit ähnlich aktiv wie der Prototyp Gefitinib (**7a**). Mit zunehmender Größe der Sulfamidstrukturelemente wie in den Verbindungen **7d–e** und **7h** nahm die Inhibition der EGFR-Kinase ab. Die inhibitorische Aktivität an EGFR blieb jedoch auch bei diesen Verbindungen im nanomolaren Bereich (Tabelle 5-3). Das mit einem cyclischen Sulfamid verknüpfte Anilinochinazolin **7b** stellt in dieser Arbeit die potenteste Verbindung gegenüber der EGFR dar ($IC_{50} = 0.00039 \mu\text{M}$). Die Verbindung **7b** zeigte im Vergleich zu Gefitinib (**7a**) relativ ähnliche Proteinkinase-inhibitorische Aktivitäten (Tabelle 5-3). Dabei wies die Verbindung **7b** eine dreifach niedrigere Inhibition der ABL1 und eine vergleichbare Inhibition der VEGFR-2 auf.

Ebenso wie Gefitinib (**7a**) hemmten alle mit NeuSIG-verknüpften Anilinochinazoline **7b–h** die zum Vergleich ebenfalls getesteten Proteinkinasen ABL1, CDK8/CycC und VEGFR-2 entweder überhaupt nicht oder nur in sehr hohen Konzentrationen, die mindestens drei Größenordnungen über den inhibitorischen Konzentrationen für die Target-Kinase EGFR lagen. Der Austausch der Morpholinoteilstruktur gegen ein Sulfamid basiertes NeuSIG führte demnach nicht zu einem Selektivitätsverlust. Insbesondere die Azetidin-substituierte Verbindung **7g** wies lediglich eine Inhibition der EGFR auf und war damit zumindest im hier verwendeten Kinase-Panel selektiver als Gefitinib (**7a**).

Tabelle 5-3: Proteinkinase-inhibitorische Aktivität der Anilinochinazoline Gefitinib (**7a**) und **7b–h** unter Angabe der IC₅₀-Werte (Einfachbestimmung).



	R	IC ₅₀ (μM)			
		ABL1 wt	CDK8/CycC	EGFR wt	VEGFR-2
7a		19	>100	0.00024	16
7b		64	>100	0.00039	9.7
7c		>100	>100	0.00071	31
7d		68.0	95	0.033	18
7e		>100	83	0.0035	68
7f		>100	>100	0.00054	39
7g		>100	>100	0.00052	>100
7h		>100	>100	0.0060	17

Der Austausch der Morpholinoteilstruktur in Gefitinib (**7a**) gegen Sulfamid basierte NeuSIGs führte zu Verbindungen mit potenter inhibitorischer Aktivität an EGFR. Es kann angenommen werden, dass die NeuSIG enthaltenden Verbindungen **7b–h** ähnliche Orientierungen innerhalb der ATP-Bindetasche der EGFR wie Gefitinib (**7a**) einnehmen. In Abbildung 5-2 ist exemplarisch die Bindepose von **7a** (Resultat einer Röntgenstrukturanalyse, PDB: 4I22)¹⁴¹ und **7b** (Resultat einer *docking*-Studie in der Proteinstruktur mit der PDB: 4I22)¹⁴¹ in EGFR dargestellt. Sowohl die Morpholinopartialstruktur in **7a** als auch das potentiell als NeuSIG-fungierende cyclische Sulfamid in **7b** sind dem Lösemittel zugewandt.

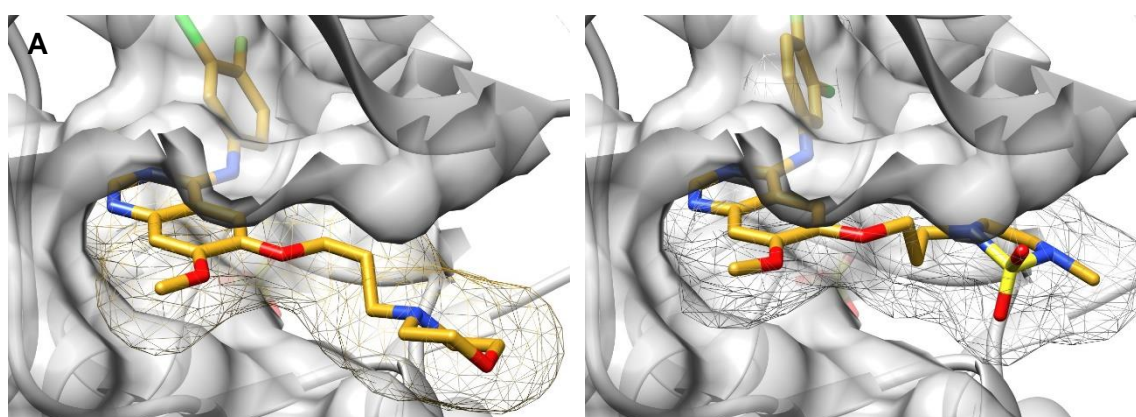


Abbildung 5-2: Bindemodi von Gefitinib (**7a**, rotgold, **A**) und der Verbindung **7b** (rotgold, **B**) in der ATP-Bindetasche der EGFR (PDB: 4I22, grau).¹⁴¹

Gefitinib (**7a**) und das NeuSIG enthaltende Anilinochinazolin **7b** wurde zudem an 16 verschiedenen EGFR-Kinasevarianten getestet. Diese Varianten zeichnen sich durch verschiedene Mutationen in ihrer Kinasedomäne aus. Die EGFR-Inhibitoren der ersten Generation wie das Gefitinib (**7a**) weisen keine bzw. abgeschwächte inhibitorische Aktivitäten gegen einige dieser Mutanten auf (Abbildung 5-3). Neue EGFR-Inhibitoren sollten auch mutierte EGFR inhibieren und somit der Resistenzentwicklung entgegenwirken.¹¹² Die Verbindung **7b** zeigte in diesem EGFR-Mutantenpanel ein vergleichbares Inhibitionsprofil wie Gefitinib (**7a**). Insbesondere einige EGFR-Varianten mit multiplen Mutationen wurden von keiner der beiden Verbindungen im untersuchten Konzentrationsbereich gehemmt. Interessanterweise hemmte **7b** die *gatekeeper*-Mutante EGFR T790M (IC₅₀-Wert = 273 nM), die als Ursache für die Resistenzentstehung gegen Gefitinib (**7a**) verantwortlich gemacht wird.¹³⁹ Weiterhin wurde EGFR L718Q von **7b** mit einem

IC₅₀-Wert von 176 nM inhibiert. Im Gegensatz dazu zeigte Gefitinib (**7a**) gegenüber diesen beiden EGFR-Kinasevarianten einen IC₅₀-Wert über 300 nM. Die Inhibitionsprofile der Verbindungen **7a** und **7b** gegenüber den EGFR-Kinasevarianten sind in Abbildung 5-3 als pIC₅₀-Werte dargestellt, die sich aus dem negativ dekadischen Logarithmen der IC₅₀-Werte ergeben. Ein hoher pIC₅₀-Wert entspricht einer starken Hemmung der entsprechenden Kinasevariante.

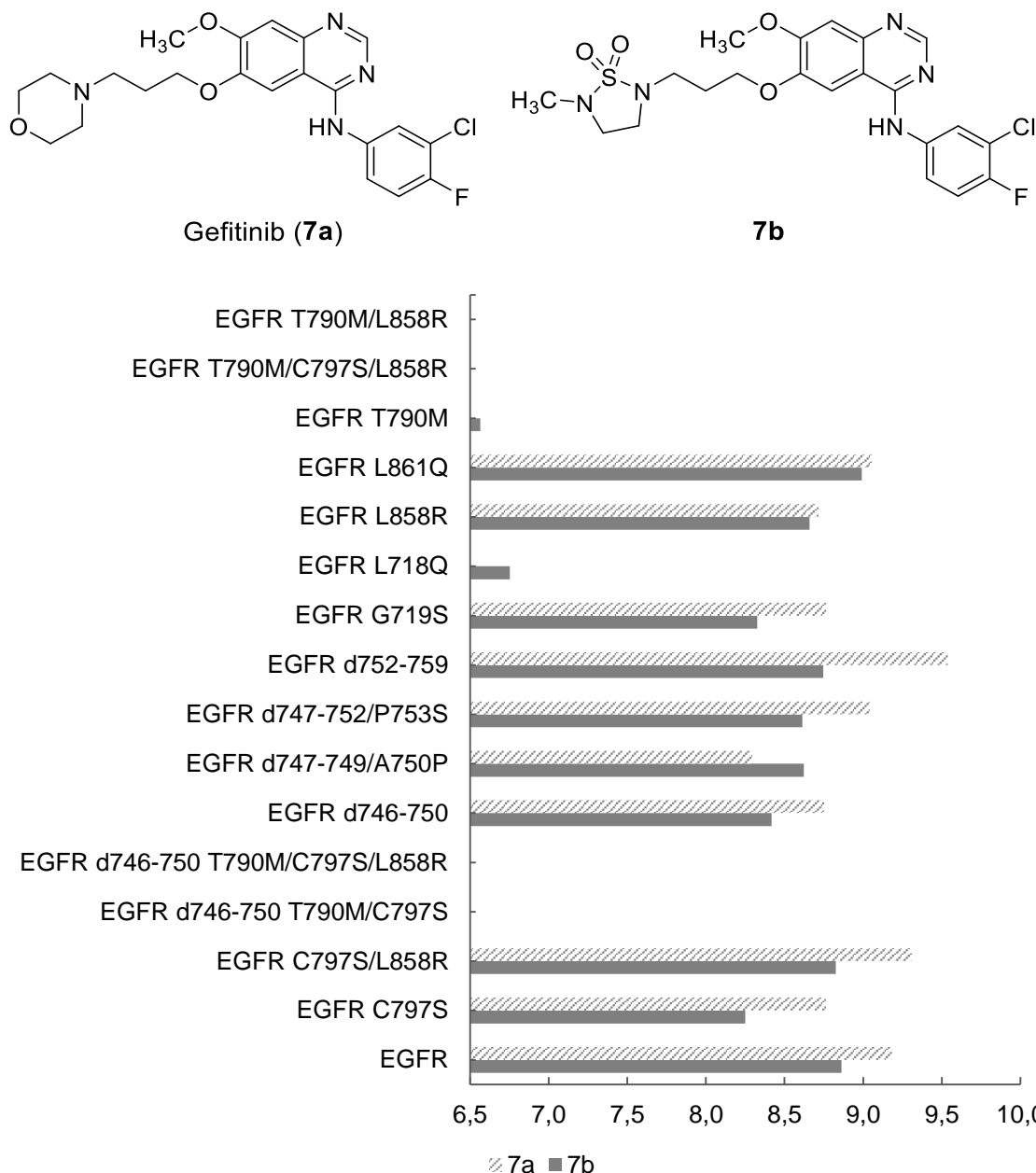


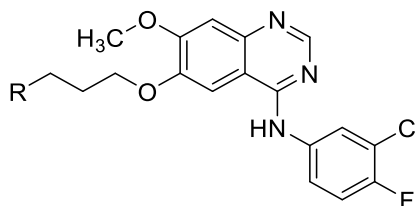
Abbildung 5-3: Inhibitionsprofile von Gefitinib (**7a**) und der Verbindung **7b** gegenüber 16 EGFR-Kinasevarianten (y-Achse) unter Angabe der pIC₅₀-Werte (x-Achse). Fehlende Balken entsprechen einem pIC₅₀-Wert unter 6.5. Der pIC₅₀-Wert ergibt sich aus dem negativ dekadischen Logarithmus des IC₅₀-Werts (Einfachbestimmung).

5.2 Zytotoxizität

Das zytotoxische Potential der NeuSIG enthaltenden Anilinochinazoline **7b–h** und von Gefitinib (**7a**) wurde unter Anwendung eines Kristallviolett-Assays bestimmt. Hierbei handelt es sich um ein kolorimetrisches Verfahren, bei dem die Absorption des in lebenden Zellen gebundenen Kristallvioletts gemessen wird. Abgestorbene Zellen werden vor der Bestimmung der Absorption ausgewaschen, da auch diese unspezifisch Kristallviolett binden.^{160, 161} Getestet wurden die Verbindungen **7a–h** an vier humanen Krebszelllinien: einer kolorektalen Adenokarzinomzelllinie (HT-29), zwei Mammaadenokarzinomzelllinien (MCF-7, östrogensensitiv; MDA-MB-231, nicht östrogensensitiv) und einer Adenokarzinomzelllinie der Leber (SK-HEP-1). Zusätzlich wurde an gesunden immortalisierten humanen Nierenzellen (RC-124) getestet (Tabelle 5-4).

Dabei zeigte Gefitinib (**7a**) zytotoxische Eigenschaften an allen verwendeten Zelllinien im mikromolaren Konzentrationsbereich. Für die NeuSIG enthaltenden Verbindungen zeichnete sich ein recht heterogenes Ergebnis hinsichtlich ihres zytotoxischen Potentials ab. Ähnlichkeiten bestehen in den zytotoxischen Eigenschaften gegenüber der SK-HEP-1-Zelllinie, die durch alle getesteten Verbindungen mit Ausnahme von **7b** in einstellig mikromolaren oder submikromolaren Konzentrationen inhibiert wurde. Verbindung **7b** inhibierte die gesunde RC-124-Zelllinie im einstellig mikromolaren Bereich ($IC_{50} = 3.7 - 8.7 \mu M$), wies jedoch keine Viabilitätshemmenden Effekte an den Krebszelllinien auf. Weiterhin zeigten die Verbindungen **7c**, **7f** und **7g** keine zytotoxischen Effekte gegenüber den Zelllinien MCF-7, MDA-MB-231 und HT-29, während SK-HEP-1 und RC-124 in ihrer Viabilität im einstellig mikromolaren Bereich beeinträchtigt wurden. Sowohl die Verbindung **7d** als auch **7e** verhielten sich hinsichtlich des zytotoxischen Potentials gegenüber den verwendeten Zelllinien ähnlich wie Gefitinib (**7a**). Hierbei wies **7d** einen hohen zytotoxischen Effekt zu der SK-HEP-1-Zelllinie auf ($IC_{50} = 0.075 - 0.080 \mu M$), obwohl **7d** nur moderate Proteinkinase-inhibitorische Eigenschaften zeigte. Die Einführung von zwei Fluoratomen in Verbindung **7h** führte im Vergleich zu **7e** zu einem Aktivitätsverlust an den Zelllinien HT-29 und MCF-7. Lediglich zu MDA-MB-231 und SK-HEP-1 konnten bei **7h** Viabilitätshemmende Eigenschaften nachgewiesen werden.

Tabelle 5-4: Ergebnisse der Zytotoxizitätsuntersuchungen der Anilinochinazoline Gefitinib (**7a**) und **7–h** unter Angabe der IC₅₀-Werte (μM).



	R	IC ₅₀ (μM)				
		HT-29	MCF-7	MDA-MB-231	SK-HEP-1	RC-124
7a		6.3–8.9 ^a	12–22 ^a	9.6–10 ^a	6.5–7.7 ^a	3.1–4.9 ^a
7b		>100 ^b	>100 ^b	>100 ^b	>100 ^b	3.7–8.7 ^b
7c		>100 ^b	>100 ^b	>100 ^b	0.79–1.3 ^b	1.0–4.5 ^b
7d		4.1–8.0 ^a	67 ^c	7.1–11 ^a	0.075–0.080 ^a	0.46–0.98 ^a
7e		17–19 ^a	17–27 ^a	6.2–13 ^a	6.1–7.3 ^a	n.a. ^a
7f		>100 ^a	>100 ^a	>100 ^c	3.7–4.5 ^a	0.69–2.0 ^b
7g		>100 ^a	>100 ^a	>100 ^c	6.7–34 ^b	0.41–0.084 ^a
7h		>100 ^a	>100 ^b	3.8–8.7 ^a	2.7–12 ^a	n.a. ^a

a: Stammlösung der jeweiligen Verbindung in *N,N*-Dimethylformamid; Angabe als Spanne zwischen zwei Bestimmungen; b: Stammlösung der jeweiligen Verbindung in DMSO; Angabe als Spanne zwischen zwei Bestimmungen; c: Stammlösung der jeweiligen Verbindung in *N,N*-Dimethylformamid; Einzelbestimmung; n.a.: nicht auswertbar.

Mit Ausnahme von **7h**, bei dem die entsprechenden Experimente wegen zu starker Streuung nicht auswertbar waren, erwiesen sich alle getesteten Analoga des Gefitinibs (**7a**) als zytotoxisch für die nicht maligne Nierenzelllinie RC-124. Gefitinib (**7a**) war erwartungsgemäß auch zytotoxisch für die vier getesteten Krebszelllinien. Dieses Ergebnis wurde in ähnlicher Form nur mit den relativ lipophilen Verbindungen **7d** und **7e** erhalten, während die weiteren Vertreter bei mindestens zwei der getesteten Tumorzelllinien praktisch keine Inhibition bewirkten. Der Grund für diese Beobachtung ist unklar, er könnte in einer unzureichenden Aufnahme der entsprechenden Verbindungen in die Tumorzelle liegen. Bemerkenswert ist die starke Inhibition der Leberadenokarzinomzelllinie SK-HEP-1 durch die Boc-modifizierte Verbindung **7d** im zweistellig nanomolaren Konzentrationsbereich. Dies ist besonders interessant, weil **7d** im Vergleich zu den anderen hier beschriebenen Anilinochinazolininen nur ein relativ schwacher EGFR-Inhibitor ist.

6 Veränderung physikochemischer Eigenschaften durch NeuSIGs

Bei der Entwicklung potentieller Wirkstoffe sollten neben der biologischen Aktivität auch die physikochemischen Eigenschaften berücksichtigt werden.⁸ Durch die Veränderung der ADME-Eigenschaften kann die Bioverfügbarkeit eines Arzneistoffkandidaten moduliert werden. Oft begrenzt mangelnde Wasserlöslichkeit die resorbierbare Menge eines Wirkstoffs nach oraler Applikation. Eine Möglichkeit zur Verbesserung der Löslichkeit potentieller Wirkstoffe stellt neben der Entwicklung geeigneter Formulierungen das rationale Wirkstoffdesign dar. Nicht immer gelingt die Verbesserung der Wasserlöslichkeit, was zum Scheitern vielversprechender Arzneistoffkandidaten in klinischen Phasen führen kann. Daher ist die Evaluierung der physikochemischen Eigenschaften, wie der Wasserlöslichkeit, in der frühen Phase der Entwicklung eines potentiellen Wirkstoffkandidaten besonders wichtig.⁷ Der zugelassene Arzneistoff Gefitinib (**7a**) weist je nach pH-Wert ein unterschiedliches Löslichkeitsprofil in Wasser auf. Über einem pH-Wert von fünf nimmt die Löslichkeit von Gefitinib stark ab. Durch die zusätzliche Einnahme von Arzneistoffen wie Ranitidin kann der pH-Wert im Magen angehoben werden, wodurch die Löslichkeit von Gefitinib negativ beeinflusst wird. Neben der pH-abhängigen Löslichkeit zeigt **7a** eine hohe Permeabilität, sodass es der Klasse II des BCS zugeordnet wird.¹⁶² Wegen der pH-Abhängigkeit der Löslichkeit von Arzneistoffen ist es wichtig, diese insbesondere bei einem physiologischem pH-Wert zu untersuchen und zu verbessern.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden die Anilinopyrimidine **30a–b**, **30e** und das Anilinochinazolin **7a** mit verschiedenen *N*-alkylierten Sulfamidstrukturen modifiziert und hinsichtlich ihrer physikochemischen Parameter evaluiert (Tabelle 6-1 und Tabelle 6-2). Zunächst wurde durch die Anwendung der Ro5-Kriterien nach LIPINSKI *et al.*²⁵ die *druglikeness*²⁶ aller synthetisierten Verbindungen untersucht. Daneben wurden die nach VEBER *et al.*²⁹ postulierten Parameter der *polar surface area* und die Anzahl an rotierbaren Bindungen, die neben der Ro5 die orale Bioverfügbarkeit beeinträchtigen können, der jeweiligen Verbindungen betrachtet. Die Berechnung der PSA erfolgt im Rahmen dieser Arbeit mit der TPSA nach ERTL *et al.*⁵⁵

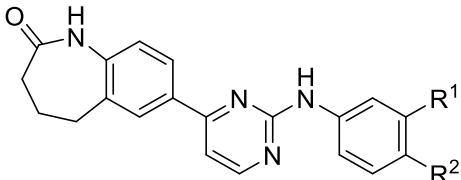
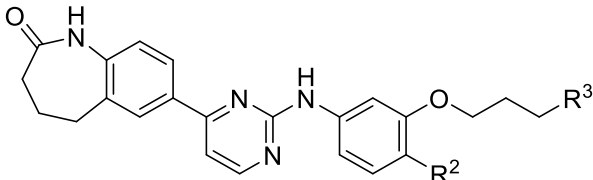
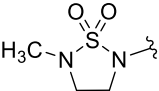
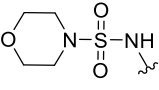
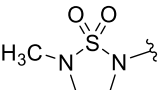
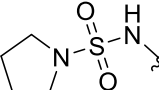
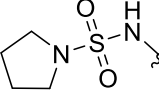
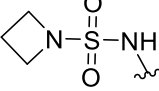
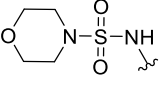
6.1 Vorhergesagte physikochemische Parameter der Anilinopyrimidine und Anilinochinazoline

Zur Vorhersage der Parameter, die für die orale Bioverfügbarkeit eines Wirkstoffs relevant sind, werden verschiedene Methoden herangezogen. Dazu gehört die Ro5 nach LIPINSKI *et al.*²⁵ sowie Verfahren zur Vorhersage des logP (Oktanol-Wasser-Verteilungskoeffizient als Maß für die Lipophilie), die theoretische Berechnung der *topological polar surface area* (TPSA), die Betrachtung der rotierbaren Bindungen (RB) und der Anteil sp³-hybridisierter Kohlenstoffatome (Fsp³). Die Vorhersage der Wasserlöslichkeit kann unter Heranziehung empirischer Daten rein theoretisch erfolgen (zum Beispiel ESOL¹⁶³, Ali *et al.*¹⁶⁴) oder experimentelle Daten wie den Schmelzpunkt berücksichtigen (YALKOWSKY *et al.*⁵⁰). Lediglich bei den Anilinopyrimidinen **30a–c** und **51** wurde die Ro5 erfüllt. Die Anzahl an Wasserstoffbrückendonatoren und -akzeptoren lag bei der Mehrzahl der Verbindungen unter fünf bzw. zehn. Ausnahmen stellten hier die Sulfamide mit Morpholinopartialstruktur **31b** und **31h** dar, die jeweils 11 bzw. 12 Akzeptorelemente aufweisen. Die NeuSIG enthaltenden Anilinopyrimidine **31c**, **31e** und **31i** enthielten 11 Akzeptorelemente. Beim berechneten clogP-Wert wurde das Kriterium der Ro5 von kleiner als fünf bei allen Anilinopyrimidinen erreicht.

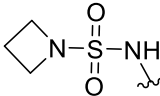
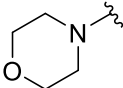
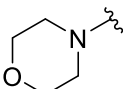
Der logP-Wert wird zur Vorhersage der Löslichkeit einer Verbindung mit Hilfe der Yalkowsky-Gleichung herangezogen.⁵⁰ Die clogP-Werte aller Verbindungen wurden sowohl mit SILICOS-IT¹¹⁴ als auch mit MarvinSketch¹⁵⁹ berechnet. Dabei zeigte sich u. a. für die Verbindung **30c** eine Differenz von etwa 0.5 log-Einheiten zwischen den beiden berechneten clogP-Werten. Daher ist es wichtig, bei der Berechnung der theoretischen Löslichkeit nach der Yalkowsky-Gleichung die Methode zur Vorhersage des clogP-Werts aufzuführen. Die Einführung der *N*-alkylierten Sulfamide in die Struktur der Anilinopyrimidine **30a–b** führte zur Erniedrigung des clogP-Werts um etwa eine log-Einheit im Vergleich zu den Verbindungen **30a–c**. Die Anilinopyrimidine mit einer Morpholinopropylpartialstruktur **51** und **52** wiesen einen im Vergleich zum unsubstituierten Anilinopyrimidin **30c** um 0.5 Einheiten höheren clogP-Wert nach SILICOS-IT¹¹⁴ auf. Die Berechnung des clogP-Werts nach MarvinSketch¹⁵⁹ ergab jedoch clogP-Werte, die sehr nah bei den Werten der unsubstituierten

Grundstruktur **30c** lagen. Dies unterstreicht die Notwendigkeit, bei jedem clogP-Wert die verwendete Berechnungsmethode mit anzugeben (Tabelle 6-1).

Tabelle 6-1: Mit SwissADME¹¹⁴ ermittelte bzw. vorhergesagte physikochemische Eigenschaften der Anilinopyrimidine **30a–c**, **31a–c**, **31e–i** und **51–52**.

								
	R ¹	R ²	R ³	Ro5 ^a	clogP ^b	clogP ^c	Fsp ^{3d}	VEBER ^e
30a	OH	H	-	+	2.99	3.89	0.15	+
30b	OH	OCH ₃	-	+	3.03	3.73	0.19	+
30c	H	H	-	+	3.48	4.19	0.15	+
31a	-	H		MW >500	2.10	2.65	0.35	+
31b	-	H		MW >500 HBA>10	2.10	2.38	0.37	TPSA >140 Å ²
31c	-	OCH ₃		MW >500 HBA>10	2.17	2.49	0.37	+
31e	-	OCH ₃		MW >500 HBA>10	2.59	2.85	0.39	TPSA >140 Å ² RB>10
31f	-	H		MW >500	2.51	3.01	0.37	+
31g	-	H		MW >500	2.28	2.49	0.35	+
31h	-	OCH ₃		MW >500 HBA>10	2.18	2.22	0.39	TPSA >140 Å ² RB>10

Fortsetzung der Tabelle 6-1: Mit SwissADME¹¹⁴ ermittelte bzw. vorhergesagte physikochemische Eigenschaften der Anilinopyrimidine **30a–c**, **31a–c** und **31e–i**.

	R ¹	R ²	R ³	Ro5 ^a	clogP ^b	clogP ^c	Fsp ^{3d}	VEBER ^e
31i	-	OCH ₃		MW >500 HBA>10	2.36	2.33	0.37	TPSA >140 Å ² RB>10
51	-	H		+	4.04	3.89	0.37	+
52	-	OCH ₃		MW >500 HBA>10	4.11	3.73	0.39	+

a: Einhaltung der LIPINSKI²⁵ *rule of five* (Ro5) mit einem + gekennzeichnet oder Angabe des Kriteriums bei Missachtung der Ro5, MW (engl. *molecular weight*), HBA (engl. *hydrogen bond acceptor*); b: Vorhersage des clogP-Werts nach SILICOS-IT¹¹⁴; c: Vorhersage des clogP-Werts mit MarvinSketch¹⁵⁹; d: Bestimmung des Fsp³ nach Gleichung 1-2; e: Einhaltung der *rules* nach VEBER *et al.*²⁹ mit einem + gekennzeichnet oder Angabe des Kriteriums bei Missachtung.

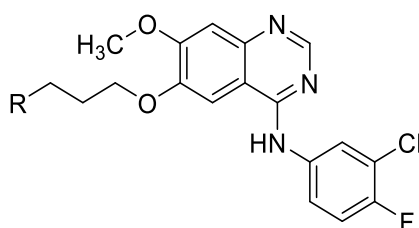
Die physikochemischen Parameter für die Verbindungen **30e** und **31d** sind in Tabelle 6-1 nicht aufgeführt. Die Werte entsprechen **30a** bzw. **31a**.

Ein weiterer Parameter, der zur Vorhersage der Löslichkeit in Wasser herangezogen werden kann, ist der Anteil an sp³-hybridisierten Kohlenstoffatomen im Molekül (Fsp³). Die Erhöhung von Fsp³ in einem Molekül kann durch die Verminderung der strukturellen Planarität auch den Schmelzpunkt beeinflussen.⁸ Eine Schmelzpunktniedrigung würde die Abnahme der Gitterenergie im kristallinen Wirkstoff anzeigen und damit eine verbesserte Wasserlöslichkeit der Verbindungen erwarten lassen.⁵³ Durch die Einführung aliphatischer Reste in Form der Alkyl linker und der *N*-alkylierten Sulfamide konnte der Fsp³ im Vergleich zu den Verbindungen **30a–c** um den Faktor zwei erhöht werden, was im Hinblick auf die Verbesserung der Wasserlöslichkeit vielversprechend war (Tabelle 6-1).

Neben der Löslichkeit beeinflusst auch die Permeabilität einer Verbindung die orale Bioverfügbarkeit.³ Permeabilitätsuntersuchungen wurden im Rahmen dieser Arbeit nicht durchgeführt. Jedoch stellt die PSA nach VEBER *et al.*²⁹ eine physikochemische Eigenschaft dar, die eine Vorhersage der Permeabilität ermöglicht. So wird bei einem PSA-Wert über 140 Å² mangelnde Bioverfügbarkeit

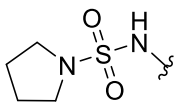
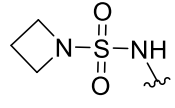
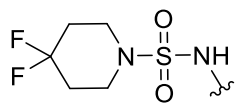
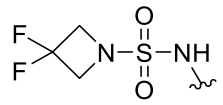
nach oraler Gabe aufgrund niedriger Permeabilität erwartet. Die Anzahl der rotierbaren Bindungen (RB) bestimmt die Flexibilität eines Moleküls.²⁹ Auch dieses Kriterium kann neben der Ro5 für die Abschätzung der oralen Bioverfügbarkeit²⁶ herangezogen werden, denn bei einer RB oberhalb zehn wird eine zu niedrige Permeabilität erwartet.²⁹ Die NeuSIG enthaltenden Anilinopyrimidine **31b**, **31e** und **31h-i** erfüllen die Bedingungen einer PSA von unter 140 Å² bzw. einer Anzahl an rotierbaren Bindungen (RB) von unter zehn nicht. Alle anderen in Tabelle 6-1 aufgeführten Substanzen erfüllen hingegen die zuvor genannten Kriterien.

Tabelle 6-2: Mit SwissADME¹¹⁴ ermittelte bzw. vorhergesagte physikochemische Eigenschaften der Anilinochinazoline **7a-i**.



	R ³	Ro5 ^a	clogP ^b	clogP ^c	Fsp ^{3d}	VEBER ^e
7a		+	4.31	3.75	0.36	+
7b		+	2.38	2.51	0.33	+
7c		MW>500	2.40	2.24	0.36	+
7d		MW>500 HBA≥10	2.44	3.21	0.44	TPSA >140 Å ² RB>10
7e		MW>500	3.03	3.31	0.39	+

Fortsetzung der Tabelle 6-2: Mit SwissADME¹¹⁴ ermittelte bzw. vorhergesagte physikochemische Eigenschaften der Anilinochinazoline **7a–i**.

	R ³	Ro5 ^a	clogP ^b	clogP ^c	Fsp ^{3d}	VEBER ^e
7f		MW>500	2.79	2.86	0.36	+
7g		+	2.56	2.35	0.33	+
7h		MW>500 HBA≥10	3.46	3.53	0.39	+
7i		MW>500 HBA≥10	2.99	2.99	0.33	+

a: Einhaltung der LIPINSKI²⁵ *rule of five* (Ro5) mit einem + gekennzeichnet oder Angabe des Kriteriums bei Missachtung der Ro5, MW (engl. *molecular weight*), HBA (engl. *hydrogen bond acceptor*); b: Vorhersage des clogP-Werts nach SILICOS-IT¹¹⁴; c: Vorhersage des clogP-Werts mit MarvinSketch¹⁵⁹; d: Bestimmung des Fsp³ nach Gleichung 1-2; e: Einhaltung der *rules* nach VEBER *et al.*²⁹ mit einem + gekennzeichnet oder Angabe des Kriteriums bei Missachtung.

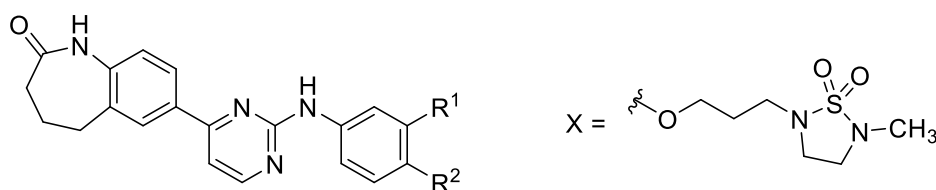
Auch die NeuSIG enthaltenden Anilinochinazoline **7b–i** wurden hinsichtlich ihrer physikochemischen Eigenschaften untersucht (Tabelle 6-2). Dabei wurde die Ro5 nicht von allen Verbindungen erfüllt. Die maximal tolerierte relative Molekülmasse von 500 wurde bei nahezu allen NeuSIG enthaltenden Anilinochinazolinen mit Ausnahme der Verbindungen **7b** und **7g** überschritten. Weiterhin war die Zahl der Wasserstoffbrückenakzeptoren bei den Verbindungen **7d** und **7h–i** größer als zehn. Nach VEBER *et al.*²⁹ erfüllt nur **7d** die Kriterien der PSA unter 140 Å² und RB unter zehn nicht, weshalb bei dieser Verbindung mit niedriger oraler Bioverfügbarkeit zu rechnen ist. Jedoch zeigten die Anilinochinazoline bei Zytotoxizitätsuntersuchungen eine Viabilitätshemmung. Dieser Effekt kann nur erreicht werden, wenn die Verbindungen ins Zellinnere gelangen und zumindest eine gewisse Permeabilität aufweisen. Gefitinib hingegen erfüllt sowohl die Ro5 als auch die Kriterien nach VEBER *et al.*²⁹ Der Austausch der Morpholinoteilstruktur gegen die *N*-alkylierten Sulfamide **34a–h** führte zu einer Abnahme des

clogP-Werts im Vergleich zu Gefitinib, was eine stärkere Hydrophilie indiziert. Der Fsp³ ändert sich bei den NeuSIG enthaltenden Anilinochinazolinen **7b–i** im Vergleich zu Gefitinib nur geringfügig.

6.2 Einfluss der NeuSIGs auf die LLE- und LE-Werte

Neben den physikochemischen Eigenschaften eines Wirkstoffs ist natürlich dessen Wirkstärke, d.h. die Aktivität an der biologischen Zielstruktur, wichtig für dessen Eignung für eine weitere Entwicklung zum Arzneistoff.^{3, 25} Entscheidend ist dabei, ob die für die gewünschte Wirkung notwendige Konzentration der Verbindung am Wirkort auch erreicht werden kann.¹ Die Parameter LE (engl. *ligand efficiency*) und LLE (engl. *lipophilic ligand efficiency*) beziehen die biologische Aktivität mit ein und sind in diesem Zusammenhang besonders geeignet, frühzeitig die Entwicklungschancen einer Verbindung abzuschätzen.⁵⁷

Tabelle 6-3: LLE- und LE-Werte für einige an der Aurora-Kinase A aktiven Anilinopyrimidine **30a**, **30c**, **30e**, **31a** und **31d**.



	R ¹	R ²	IC ₅₀ Aurora-Kinase A (μM)	LLE ^a	LE ^b
30a	OH	H	3.5	1.57	0.288
30c	H	H	3.6	1.25	0.298
30e	H	OH	2.9	1.65	0.292
31a	X	H	1.8	3.09	0.213
31d	H	X	3.0	2.87	0.204

a: Berechnung LLE-Wert nach Gleichung 1-4 mit dem clogP-Wert (MarvinSketch¹⁵⁹) aus Tabelle 6-1; b: Berechnung LE-Wert nach Gleichung 1-3.

Die Einführung von NeuSIGs in Strukturen der Anilinopyrimidine **30a** und **30c** und Anilinochinazoline **7a** zeigte, dass neben einer Änderung des clogP-Werts die

inhibitorische Aktivität gegenüber den Targets kaum beeinflusst wurde. Mit dem LE- und LLE-Wert werden die biologische Aktivität und die Lipophilie bzw. Molekülgröße miteinander verknüpft. Molekülgröße und Lipophilie nehmen im Laufe der Entwicklung potentieller Wirkstoffkandidaten durch Einführung von Substituenten üblicherweise zu.⁵⁷ Bei den im Rahmen dieser Arbeit eingeführten NeuSIGs nahm zwar jeweils die Molekülgröße zu, die clogP-Werte wurden dagegen abgesenkt.

Durch Einführung von NeuSIGs an Strukturen der Anilinopyrimidine **30a**, **30c** und **30e** nahm die Molekülgröße zu, die Lipophilie jedoch ab. Dabei erfüllen die Anilinopyrimidine **30a**, **30c** und **30e** und die NeuSIG enthaltenden Verbindungen **31a** und **31d** die Anforderung eines LE-Werts für potentielle Arzneistoffkandidaten von über 0.3 nicht.⁵⁷ Die Verbindungen **31a** und **31d** zeigen jedoch einen geringeren LE-Wert als die Anilinopyrimidine **30a**, **30c** und **30e**. Diese Abnahme wird durch die erhöhte Anzahl an Nichtwasserstoffatomen (HA) in **31a** und **31d** hervorgerufen. Tabelle 6-3 zeigt exemplarisch die LLE- und LE-Werte der Anilinopyrimidine, bei denen das cyclische Sulfamid **34a** als NeuSIG eingeführt wurde.

Die Anilinochinazoline **7a–h** mit Ausnahme von **7d** erreichen den Ziel-LE-Wert von größer 0.3 (Tabelle 6-4). Weiterhin zeigt sich bei den LE-Werten der NeuSIG enthaltenden Anilinochinazoline **7a–h**, dass durch die Einführung eines *N*-alkylierten Sulfamids **34a–g** der LE-Wert im Vergleich zu Gefitinib (**7a**) abnimmt, was mit dem erhöhten Molekulargewicht und der geringfügig niedrigeren biologischen Aktivität zusammenhängt. Hierdurch wird deutlich, dass der clogP-Wert, die Molekülgröße und die inhibitorische Aktivität gemeinsam betrachtet werden sollten.

Beim LLE-Wert wird neben dem IC₅₀-Wert auch die Lipophilie einer Verbindung, beschrieben durch den clogP-Wert, betrachtet. Die angestrebten LLE-Werte zwischen fünf und sieben, die bei Arzneistoffen mit einem clogP von etwa 2.5 und einer inhibitorischen Aktivität gegenüber dem Target von etwa 1–10 nM festgelegt wurden,¹¹ wurden mit den Anilinopyrimidinen **30a**, **30c** und **30e** nicht erreicht. Erst durch die Einführung des cyclischen Sulfamids **34a** als potentiellen NeuSIG wurden LLE-Werte von etwa drei berechnet (Tabelle 6-3). Der Einfluss des logP-Werts wird hier deutlich, da bei gleichbleibender biologischer Aktivität

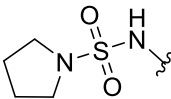
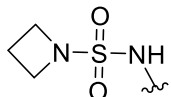
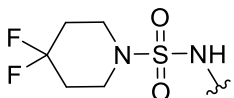
gegenüber der Aurora-Kinase A im Vergleich zu den Anilinopyrimidinen **30a**, **30c** und **30e** ein LLE-Wert von größer zwei erreicht wurde.

Bei den Anilinochinazolinen wurden LLE-Werte zwischen fünf und sieben für alle Verbindungen mit Ausnahme von **7d** und **7h** erreicht. Verbindungen, die eine vergleichbare Aktivität an der EGFR-Kinase wie Gefitinib aufwiesen, zeigten einen leicht erhöhten LLE-Wert. Dies traf auf die in dieser Arbeit potentesten NeuSIG enthaltenden Anilinochinazoline **7b–c** und **7f–g** zu. Diese hohen LLE-Werte von etwa sieben werden vor allem durch die geringeren clogP-Werte im Vergleich zu Gefitinib verursacht, da die inhibitorische Aktivität an der biologischen Zielstruktur EGFR vergleichbar war (Tabelle 6-4).

Tabelle 6-4: LLE- und LE-Werte der EGFR-inhibitorischen Anilinochinazoline **7a–h**.

	R	IC ₅₀ EGFR (nM)	LLE ^a	LE ^b
7a		0.24	5.58	0.425
7b		0.39	6.97	0.391
7c		0.71	6.83	0.358
7d		33	4.66	0.244
7e		3.5	5.29	0.331

Fortsetzung der Tabelle 6-4: LLE- und LE-Werte der EGFR-inhibitorischen Anilinochinazoline **7a–h**.

	R	IC ₅₀ EGFR (nM)	LLE ^a	LE ^b
7f		0.54	6.44	0.373
7g		0.52	6.83	0.386
7h		6.0	4.73	0.304

a: Berechnung LLE-Wert nach Gleichung 1-4 mit dem clogP-Wert (MarvinSketch¹⁵⁹) aus Tabelle 6-2; b: Berechnung LE-Wert nach Gleichung 1-3.

6.3 Löslichkeitsstudien

6.3.1 Vorhergesagte Löslichkeit neuer Anilinopyrimidine und Anilinochinazoline

Neben der Beurteilung der *druglikeness* mit der Ro5²⁶ und den Kriterien nach VEBER *et al.*²⁹ wurden weitere physikochemische Eigenschaften wie das sp²/sp³-Verhältnis evaluiert. Weiterhin wurde für die Verbindungen der clogP-Wert berechnet, welcher eine wichtige Rolle bei der Vorhersage der Löslichkeit nach YALKOWSKY *et al.*⁵⁰ spielt. Die Löslichkeit einer Verbindung wird als wichtiger Faktor in der Arzneistoffentwicklung angesehen, der nicht erst in den präklinischen und klinischen Phasen betrachtet werden sollte.³⁴ Bereits beim HTS oder dem *hit-to-lead* Prozess sollten die physikochemischen Eigenschaften, insbesondere die Löslichkeit in Wasser, berücksichtigt werden.^{3, 34} Die potentiellen Wirkstoffkandidaten sollten in Abhängigkeit von der relativen Molekülmasse eine Löslichkeit von größer als 60 µg/mL aufweisen. Bei einer relativen Molekülmasse von 600 entspricht das einer Löslichkeit von 100 µM.³³ Die Löslichkeit der im Rahmen dieser Arbeit hergestellten Verbindungen wurde vor der experimentellen Bestimmung zunächst mit der Yalkowsky-Gleichung und mit zwei verschiedenen

theoretischen Modellen vorhergesagt. Diese Methoden werden im Folgenden vorgestellt.

In die Löslichkeitsabschätzung nach YALKOWSKY *et al.*⁵⁰ fließen zwei physikochemische Parameter, der clogP-Wert und der Schmelzpunkt (Schmp. in °C), ein (Gleichung 6-1).

$$\log S_{Yalkowsky} = 0.5 - \text{clogP} - 0.01 \times (\text{Schmp.} - 25) \quad (\text{Gleichung 6-1})$$

Andere Modelle, die zur Vorhersage der Löslichkeit eingesetzt werden, verwenden statt des experimentellen Schmelzpunkts einer Verbindung andere physikochemische Parameter.¹¹⁴

Die Vorhersage der Löslichkeit nach ESOL (*Estimated SOLubility*)¹⁶³ berücksichtigt neben dem clogP-Wert die relative Molmasse (M_r) der Verbindung sowie die Anzahl der rotierbaren Bindungen (RB) und die Anzahl der Nichtwasserstoffatome im aromatischen System (AP, engl. *aromatic proportion*) des Moleküls (Gleichung 6-2). Die Erstellung der Gleichung ergab sich aus dem verwendeten *training set*, welches die physikochemischen Eigenschaften von 2874 Verbindungen enthielt. Darunter waren Moleküle mit einer relativen Molmasse zwischen 200–400, einem durchschnittlichen clogP-Wert von 3.0, einer mittleren RB von 1.6 und einer mittleren AP von 0.40 enthalten. Das Bestimmtheitsmaß (R^2) zwischen der experimentell und theoretisch bestimmten Löslichkeit lag bei $R^2 = 0.69$.¹⁶³

$$\text{clog} S_E = 0.16 - 0.63 \times \text{clogP} - 0.0062 \times M_r + 0.066 \times \text{RB} - 0.74 \times \text{AP} \quad (\text{Gleichung 6-2})$$

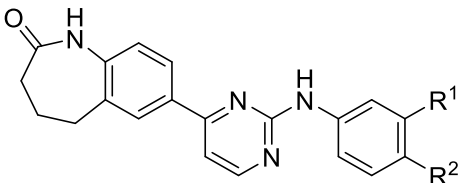
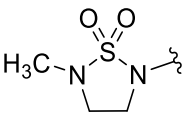
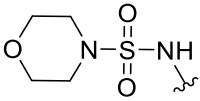
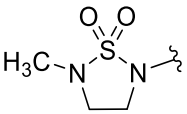
Bei der Vorhersage der Löslichkeit nach ALI *et al.*¹⁶⁴ werden lediglich der clogP-Wert und die TPSA einer Verbindung berücksichtigt (Gleichung 6-3). Das *training set* umfasste bei der Entwicklung dieser Methode 1256 Verbindungen, welche eine experimentelle Löslichkeit $-\log S$ (mol/L) von -8.48 bis +1.58 aufwiesen. Das Bestimmtheitsmaß betrug $R^2 = 0.81$ und lag damit höher als bei ESOL.¹⁶⁴

$$\text{clog} S_A = 0.4488 - 1.0377 \times \text{clogP} - 0.02100 \times \text{TPSA} \quad (\text{Gleichung 6-3})$$

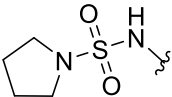
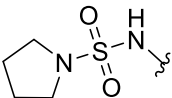
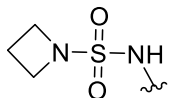
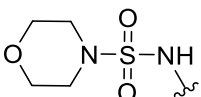
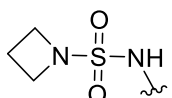
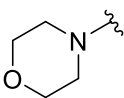
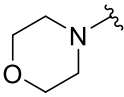
Im Rahmen dieser Arbeit erfolgten die Berechnungen der theoretischen Löslichkeit nach ESOL¹⁶³ und Ali *et al.*¹⁶⁴ mit SwissADME.¹¹⁴ Dabei wurden die erhaltenen clogS-Werte der jeweiligen Verbindungen von löslich (clogS > -4) bis schlecht löslich (clogS < -6) eingestuft. Eine moderate Löslichkeit liegt bei clogS-Werten zwischen -4 und -6 vor.¹¹⁴

Zunächst wurden die Schmelzintervalle der jeweiligen Verbindungen bestimmt. Durch die Einführung von *N*-alkylierten Sulfamiden in Strukturen der Anilinopyrimidine **30a–b** konnte eine Schmelzpunktabnahme im Vergleich zu **30c** festgestellt werden. Daneben wurde für einige NeuSIG enthaltende Verbindungen wie **31b** und **31f–h** große Schmelzintervalle von etwa 100°C beobachtet, die eventuell durch Umwandlung verschiedener Modifikationen beim Erhitzen hervorgerufen wurden (Tabelle 6-5).

Tabelle 6-5: Vorhergesagte Löslichkeiten der Anilinopyrimidine **30a–c**, **31a–c**, **31e–i** und **51–52**.

				Schmp. (°C) ^a	logS ^{Yalkowsky}		clogS _E ^d	clogS _A ^e
	R ¹	R ²	R ³		clogP ^b	clogP ^c		
30a	OH	H	-	237	-4.61	-5.51	-4.12	-4.38
30b	OH	OCH ₃	-	268	-4.96	-5.66	-4.19	-4.54
30c	H	H	-	249	-5.22	-5.93	-4.26	-4.32
31a	-	H		185	-3.20	-3.75	-4.51	-4.81
31b	-	H		221	-3.56	-3.84	-4.34	-4.85
31c	-	OCH ₃		201	-3.43	-3.75	-4.60	-4.98

Fortsetzung der Tabelle 6-5: Vorhergesagte Löslichkeiten der Anilinopyrimidine **30a–c**, **31a–c**, **31e–i** und **51–52**.

	R ¹	R ²	R ³	Schmp. (°C) ^a	logS _{Yalkowsky}		clogS _E ^d	clogS _A ^e
					clogP ^b	clogP ^c		
31e	-	OCH ₃		160	-3.44	-3.70	-4.88	-5.71
31f	-	H		225	-4.01	-4.51	-4.79	-5.55
31g	-	H		248	-4.01	-4.22	-4.49	-5.18
31h	-	OCH ₃		176	-3.19	-3.23	-4.42	-5.01
31i	-	OCH ₃		170	-3.31	-3.28	-4.58	-5.35
51	-	H		172	-5.01	-4.86	-4.66	-4.76
52	-	OCH ₃		179	-5.15	-4.77	-4.74	-4.93

a: Schmelzpunkt in °C (obere Schmelzintervallgrenze, Schmp.); b: Verwendung des clogP-Werts nach SILICOS-IT¹¹⁴ für die Berechnung von logS_{Yalkowsky} nach der Gleichung 6-1; c: Vorhersage des clogP-Werts nach Berechnung mit MarvinSketch¹⁵⁹ für die Berechnung von logS_{Yalkowsky} nach der Gleichung 6-1; d: theoretische Löslichkeit nach ESOL mit SwissADME¹¹⁴; e: theoretische Löslichkeit nach ALI *et al.*¹⁶⁴ mit SwissADME.¹¹⁴

Die Schmelzpunkterniedrigung bei den im Rahmen dieser Arbeit hergestellten Verbindungen im Vergleich zur Grundstruktur **30c** kann durch die Einführung des Alkyllinkers mit entsprechendem NeuSIG oder der Morpholiniteilstruktur hervorgerufen werden. Durch Erniedrigung des sp²/sp³-Verhältnisses wird der Anteil planarer Elemente in der Molekülstruktur verringert. Daraus können sich Kristallgitter mit insgesamt schwächeren intermolekularen Kräften ergeben, wodurch der Schmelzpunkt sinkt. Diese Annahme wurde durch die Untersuchungen von ISHIKAWA *et al.*⁵³ gestützt, in denen die Einführung von

aliphatischen Resten eine Störung der Planarität der Moleküle aufzeigte. Folglich sinkt die Schmelztemperatur, wodurch nach der Yalkowsky-Gleichung die vorhergesagte Löslichkeit abnimmt.⁵³ Neben dem Schmelzpunkt wird für die Berechnung der theoretischen Löslichkeit nach Gleichung 6-1 der clogP-Wert verwendet. Für die in Tabelle 6-5 dargestellten Anilinopyrimidine wurde für die Berechnung der theoretischen Löslichkeit nach YALKOWSKY *et al.*⁵⁰ jeweils der clogP-Wert nach SILICOS-IT¹¹⁴ und nach MarvinSketch¹⁵⁹ eingesetzt, um so den Einfluss des clogP-Werts in Gleichung 6-1 aufzuzeigen. Insgesamt konnten für alle Verbindungen eine Löslichkeit mit logS_{Yalkowsky}-Werten zwischen -3 und -6 vorhergesagt werden. Die Einführung eines *N*-alkylierten Sulfamids ergab eine Verbesserung der vorhergesagten theoretischen Löslichkeit gegenüber dem unsubstituierten Anilinopyrimidin **30c** und den Anilinopyrimidinen **30a–b**. Die Anilinopyrimidine **51** und **52** mit einer basischen Seitenkette wiesen einen niedrigeren logS_{Yalkowsky}-Wert gegenüber **30c** auf. Beim Vergleich der Löslichkeit von **30c** mit den Hydroxygruppe enthaltenden Verbindungen **30a** bzw. **30b** nach Yalkowsky mit dem clogP-Wert nach MarvinSketch¹⁵⁹ wurden ähnliche Werte erhalten. Mit dem clogP-Wert nach SILICOS-IT¹¹⁴ wurde für **30a–b** hingegen eine Verbesserung der Löslichkeit vorhersagt. Auch dieses Beispiel zeigt, wie wichtig die Angabe der clogP-Berechnungsmethode bei der Verwendung der Yalkowsky-Gleichung ist.

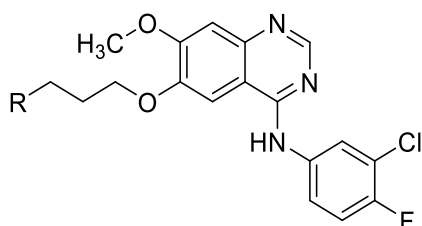
Für die Anilinopyrimidine **30a**, **30c** und **30e** und die entsprechenden NeuSIG enthaltenden Analoga **31a–c** und **31e–i** ergab die Vorhersage der Löslichkeit mit den Methoden nach ESOL¹⁶³ (clogS_E) bzw. nach ALI *et al.*¹⁶⁴ (clogS_A) vergleichbare Werte, die jedoch keine Verbesserung der Löslichkeit durch die Einführung der NeuSIGs erwarten ließen. Diese Resultate stehen damit im Widerspruch zu Vorhersagen, die mit der Yalkowsky-Gleichung ermittelt wurden. Zum Teil wurden sogar niedrigere Löslichkeiten der NeuSIG enthaltenden Anilinopyrimidine wie zum Beispiel **31e** und **31f** im Vergleich zu Verbindungen ohne NeuSIGs **31a–c** und **31e–i** vorhergesagt (clogS_A (**31f**) = -5.55; clogS_A (**30a**) = -4.38). Ursache für die niedrigen Vorhersagewerte nach ALI *et al.*¹⁶⁴ für NeuSIG enthaltende Verbindungen im Vergleich zu den Anilinopyrimidinen **30a–c** dürfte die deutliche Zunahme des TPSA-Werts sein, der einen wichtigen Parameter in der Gleichung 6-3 darstellt. Weiterhin nimmt die relative Molmasse und die RB der

mit NeuSIGs verknüpften Analoga zu, sodass trotz Abnahme des clogP-Werts mit dem Modell ESOL¹⁶³ die Löslichkeit tendenziell gleich oder niedriger als bei der unsubstituierten Grundstruktur eingestuft wird.

Auch für die Anilinochinazoline **7a–i** wurde die Löslichkeit vorhergesagt (Tabelle 6-6). Im Vergleich zu Gefitinib (**7**) zeigte sich eine Schmelzpunkterhöhung von etwa 10 – 40 °C der NeuSIG enthaltenden Anilinochinazoline **7b–i**. Anschließend wurde die theoretische Löslichkeit nach Yalkowsky mit den clogP-Werten nach SILICOS-IT¹¹⁴ und MarvinSketch¹⁵⁹ vorhergesagt (Gleichung 6-1). Die so berechneten logS_{Yalkowsky}-Werte der Verbindungen **7b–i** wiesen unter Anwendung der clogP-Werte nach SILICOS-IT¹¹⁴ eine Verbesserung der theoretischen Löslichkeit im Vergleich zu **7a** (logS_{Yalkowsky} = -5.34) aus. Für die Verbindungen **7b–d** wurde sogar eine Verbesserung der Löslichkeit um 1.5 Größenordnungen vorhergesagt.

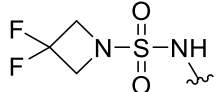
Unter Verwendung der clogP-Werte nach MarvinSketch¹⁵⁹ wurde nach Gleichung 6-1 eine Löslichkeitsverbesserung der NeuSIG-Verbindungen **7b–d** und **7f–g** mit den clogP-Werten nach SILICOS-IT im Vergleich zu **7a** vorhergesagt. Bei den Verbindungen **7e** und **7h–i** ergab die Yalkowsky-Methode dagegen eine mit Gefitinib vergleichbare Löslichkeit (Tabelle 6-6). Die mit der Yalkowsky-Gleichung (Gleichung 6-1) vorhergesagte Löslichkeit der Anilinochinazoline deckte sich nicht mit den Vorhersagen nach ESOL¹⁶³ (clogS_E) oder nach ALI *et al.*¹⁶⁴ (clogS_A). Mit ESOL wurden lediglich für die Verbindungen **7b–c**, **7f–g** und **7i** vergleichbare clogS_E-Werte von -4.72 bis -5.27 wie für Gefitinib (clogS_E (**7a**) = -5.05) vorhergesagt. Für **7d–e** und **7h** wurden hingegen im Vergleich zu **7a** niedrigere clogS_E-Werte von -5.48 bis -5.88 erhalten.

Bei Anwendung der Methode nach ALI *et al.*¹⁶⁴ wurde lediglich für die Verbindungen **7b–c** eine vergleichbare Löslichkeit zu **7a** mit clogS_A-Werten von etwa -5.3 vorhergesagt. Für die Verbindungen **7d–i** wurden eine niedrigere Löslichkeit im Vergleich zu **7a** vorausberechnet. Dies wird vor allem bei den Verbindungen **7d** und **7h** deutlich. Diese Verbindungen zeichnen sich durch eine hohe relative Molmasse und eine hohe TPSA aus. Nach dem Modell von ALI *et al.*¹⁶⁴ impliziert dies schon niedrige Löslichkeiten, die nicht mit den Vorhersagen nach Yalkowsky in Einklang gebracht werden können.

Tabelle 6-6: Vorhergesagte Löslichkeiten der Anilinochinazoline **7a–i**.

	R	Schmp. (°C) ^a	logS _{Yalkowsky}		clogS _E ^d	clogS _A ^e
			clogP ^b	clogP ^c		
7a		179	-5.35	-4.79	-5.05	-5.26
7b		204	-3.67	-3.80	-4.89	-5.30
7c		223	-3.88	-3.72	-4.72	-5.34
7d		191	-3.60	-4.37	-5.74	-6.84
7e		228	-4.56	-4.84	-5.48	-6.41
7f		210	-4.14	-4.21	-5.18	-6.05
7g		222	-4.03	-3.82	-4.88	-5.67
7h		202	-4.73	-4.80	-5.88	-6.74

Fortsetzung der Tabelle 6-6: Vorhergesagte Löslichkeiten der Anilinochinazoline **7a–i**.

	R	Schmp. (°C) ^a	logS _{Yalkowsky}		clogS _E ^d	clogS _A ^e
			clogP ^b	clogP ^c		
7i		246	-4.70	-4.70	-5.27	-5.99

a: Schmelzpunkt in °C (obere Schmelzintervallgrenze, Schmp.); b: Verwendung des clogP-Werts nach SILICOS-IT¹¹⁴ für die Berechnung von logS_{Yalkowsky} nach der Gleichung 6-1; c: Vorhersage des clogP-Werts nach Berechnung mit MarvinSketch¹⁵⁹ für die Berechnung von logS_{Yalkowsky} nach der Gleichung 6-1; d: theoretische Löslichkeit nach ESOL mit SwissADME¹¹⁴; e: theoretische Löslichkeit nach ALI *et al.*¹⁶⁴ mit SwissADME.¹¹⁴

Insgesamt zeigte sich durch die Einführung der NeuSIGs in Strukturen der Anilinopyrimidine **30a–b** und der Anilinochinazoline **7b–i** ein heterogenes Bild der Löslichkeitsvorhersage. Während nach der Yalkowsky-Gleichung (Gleichung 6-1) eine Verbesserung der Löslichkeit durch die Einführung der NeuSIGs vorhergesagt wurde, ergab die Vorhersage nach ESOL¹⁶³ eine vergleichbare Löslichkeit. Die Einführung der NeuSIGs in den jeweiligen Verbindungen bedeutet eine Zunahme der Molmasse und der RB, wodurch mit dem ESOL-Verfahren eine niedrige Löslichkeit im Vergleich zur Yalkowsky-Gleichung vorhergesagt wird. Nach ALI *et al.*¹⁶⁴ wurde insgesamt eine Erniedrigung der Löslichkeit durch die Einführung von NeuSIGs vorhergesagt. In diesem Modell wird neben dem clogP-Wert die TPSA betrachtet. Die Einführung von NeuSIGs in den jeweiligen Verbindungen führt zu einer starken Erhöhung der TPSA mit gleichzeitiger Abnahme des clogP-Werts. Die für die Löslichkeitsverbesserung günstige clogP-Verminderung wird in diesen Fällen bei der Vorhersage nach ALI *et al.*¹⁶⁴ offenbar durch die deutliche Zunahme der TPSA überkompensiert.

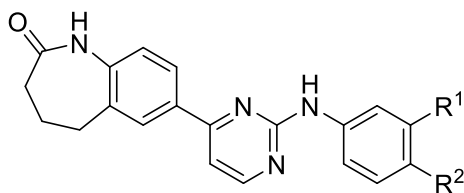
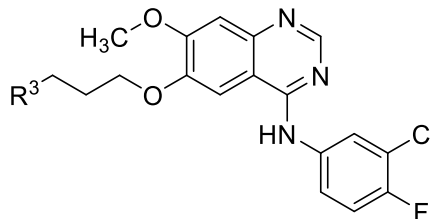
Die hier vorgestellten Beispiele zeigen, dass die verschiedenen Methoden zur Vorhersage der Löslichkeit sehr unterschiedliche Resultate ergeben können und daher nur zur groben Orientierung dienen sollten. Die experimentelle Bestimmung der Löslichkeit in einem frühen Stadium der Wirkstoffentwicklung kann durch theoretische Vorhersagemethoden nicht ersetzt werden. Um den Einfluss der NeuSIGs auf die Löslichkeit zu bestimmen und die Modellvorhersagen zu

beurteilen, wurde daher im Rahmen der hier vorgelegten Arbeit experimentell die thermodynamische und die kinetische Löslichkeit bestimmt.

6.3.2 Thermodynamische und kinetische Löslichkeit neuer Anilinopyrimidine und Anilinochinazoline

Die thermodynamische und kinetische Löslichkeit wurde in Anlehnung an die physiologischen Bedingungen des menschlichen Organismus bei einem pH-Wert von 7.4 bestimmt. Verwendet wurde eine natriumchloridhaltige Phosphatpufferlösung pH 7.4. Die Bestimmung der thermodynamischen Löslichkeit erfolgte nach einer im Arbeitskreis etablierten *shake flask* Methode.¹⁶⁵ Dabei stellt die thermodynamische Löslichkeit die Löslichkeit der thermodynamisch stabilsten Kristallform der Verbindung im Untersuchungsmedium dar.⁴⁴ Die Gleichgewichtseinstellung zwischen gelöstem und ungelöstem Anteil der Verbindung in Untersuchungsmedium wurde nach 24 h und 48 h untersucht. Zunächst wurde die Verbindung (etwa 500 µg) mit einer definierten Menge an natriumchloridhaltigem Phosphatpuffer pH 7.4 (300 µL) versetzt und für den oben genannten Zeitraum bei 25 °C und 400 rpm inkubiert. Nach Filtration der Proben erfolgte die Quantifizierung mittels HPLC-DAD unter Zuhilfenahme einer externen Kalibriergerade, welche ausgehend von einer DMSO-Stammlösung der jeweiligen Verbindung erstellt wurde.¹⁶⁵

Weder für die ausgewählten Anilinopyrimidine **30a**, **30c** und **31d** noch für die Anilinochinazoline **7a–c** und **7g** konnte die thermodynamische Löslichkeit bestimmt werden. Bedingt durch die geringe Löslichkeit konnte mittels HPLC-DAD kein Signal detektiert werden. Deshalb wird für diese Verbindungen eine thermodynamische Löslichkeit unterhalb der kleinsten Konzentration angegeben, die bei der Erstellung der Kalibriergerade der jeweiligen Verbindung eingesetzt wurde und mittels HPLC-DAD detektierbar war (Tabelle 6-7).

Tabelle 6-7: Mittels *shake flask* Methode bestimmte thermodynamische und vorhergesagte Löslichkeit ausgewählter Anilinopyrimidine und Anilinochinazoline bei physiologischem pH-Wert.**30a, 30c, 31d****7a-c, 7g**

	R ¹	R ²	cS _{ESOL} (μM) ^a	cS _{Ali} (μM) ^b	S _{therm., pH 7.4} (μM) ^c
30a	OH	H	75.9	41.7	< 3
30c	H	H	55.0	47.9	< 2
31d	-		30.9	15.5	< 2
7a	-		8.91	5.50	< 0.5
7b	-		12.9	5.01	< 0.4
7c	-		19.1	4.57	< 0.4
7g	-		13.2	2.14	< 0.4

a: Löslichkeitsvorhersage mit ESOL¹⁶³ (cS_{ESOL} in μM), berechnet mit SwissADME¹¹⁴;

b: Löslichkeitsvorhersage mit ALI *et al.*¹⁶⁴ (cS_{Ali} in μM) berechnet mit SwissADME¹¹⁴;

c: Angabe der thermodynamischen Löslichkeit (S_{therm., pH 7.4} in μM) in einer natriumchloridhaltigen Phosphatpufferlösung.

Die kinetische Löslichkeit stellt dagegen die Löslichkeit der am schnellsten präzipitierenden Form der Verbindung dar. Die Bestimmung erfolgte mit Hilfe eines Nephelometers und wurde in Anlehnung an eine modifizierte Vorschrift von BEVAN *et al.*¹⁶⁶ durchgeführt. Zunächst wurde von der jeweiligen Verbindung eine Stammlösung in DMSO hergestellt, aus der eine Verdünnungsreihe mit sieben bis neun verschiedenen Konzentrationen erstellt wurde. Anschließend wurden definierte Volumina der jeweiligen Verdünnung in DMSO und der verwendeten natriumchloridhaltigen Phosphatpufferlösung pH 7.4 in eine 96 *well*-Platte überführt und direkt nephelometrisch vermessen. Hierbei fungiert DMSO als löslichkeitsvermittelnder Zusatz, dessen Konzentration in den vermessenden Lösungen mit 1% möglichst niedrig gehalten wurde. Durch ungelöste Bestandteile in der Probe wird der Laserstrahl gestreut. Die Intensität des Streulichts wird detektiert, welche sich proportional zur Anzahl der Partikel in der Lösung verhält. Wenn die Testsubstanz vollständig gelöst ist, wird nur eine Intensität auf Blindwertniveau detektiert.

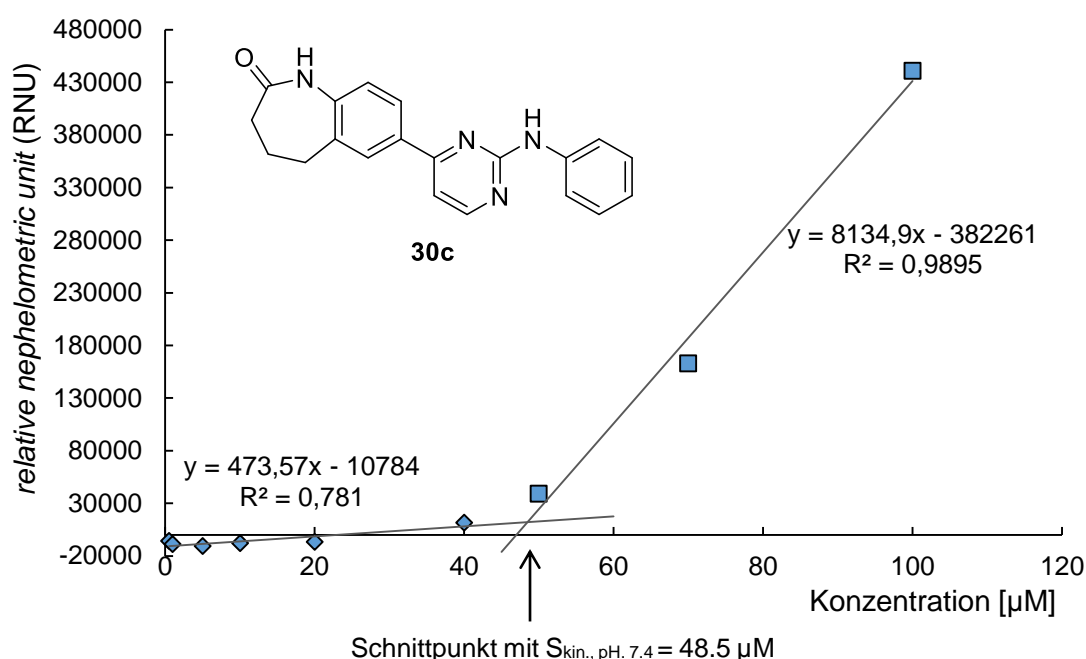


Abbildung 6-1: Bestimmung der kinetischen Löslichkeit mittels nephelometrischer Messung exemplarisch für die Verbindung **30c** (Einzelbestimmung). Die Intensität des Streulichts (y-Achse, *relativ nephelometric unit*, RNU) ist gegen die Konzentrationen der Verbindung aufgetragen (x-Achse, µM). Die Gerade A (Rauten) entspricht den Konzentrationen, bei denen keine Präzipitation von **30c** festgestellt wurde. Die Gerade B (Quadrate) entspricht den Konzentrationen ab denen die Präzipitation von **30c** zunimmt. Aus dem Schnittpunkt beider Geraden ergab sich für **30c** eine kinetische Löslichkeit ($S_{\text{kin.}, \text{pH } 7.4}$) von 48.5 µM.

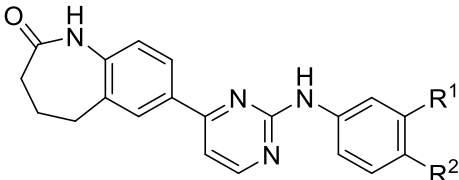
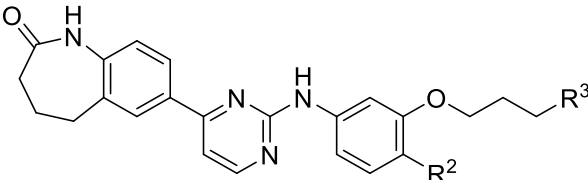
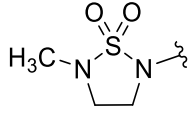
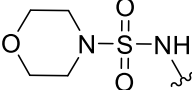
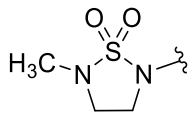
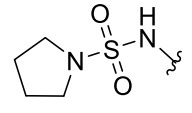
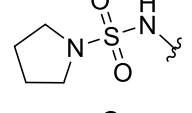
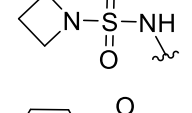
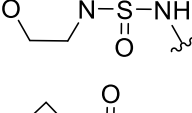
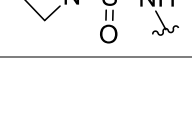
Die vermessenen Intensitäten des Streulichts (engl. *relative nephelometric unit*, RNU) wurden gegen die entsprechende Konzentration aufgetragen. Aus dem Schnittpunkt zweier Geraden für den relativ konstanten und den aufsteigenden Abschnitt ergab sich die kinetische Löslichkeit (Abbildung 6-1).

Die experimentell bestimmten kinetischen Löslichkeiten der Verbindungen wurden mit den vorhergesagten Löslichkeiten nach ESOL¹⁶³ und ALI *et al.*¹⁶⁴ sowie der Yalkowsky-Vorhersage (Gleichung 6-1) verglichen. Dabei wurde der Einfluss der eingeführten *N*-alkylierten Sulfamidteilstruktur **34a–h** auf die kinetische Löslichkeit untersucht (Tabelle 6-8 und 6-9). Zu berücksichtigen ist jedoch, dass die Modelle zur Löslichkeitsvorhersage die intrinsische Löslichkeit berücksichtigt. Diese betrachtet die thermodynamischen Löslichkeitsvorgänge einer ungeladenen Substanz in einer gesättigten Lösung.¹⁶⁷

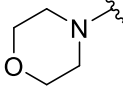
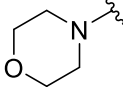
Die experimentelle Bestimmung der kinetischen Löslichkeit ($S_{\text{kin., pH 7.4}}$) ergab bei allen mit NeuSIGs modifizierten Anilinopyrimidinen deutlich niedrigere Werte als durch die Yalkowsky-Gleichung vorhergesagt worden waren. Dagegen lagen die experimentell ermittelten Werte bei diesen Verbindungen in der gleichen Größenordnung wie die mit dem ESOL-Verfahren¹⁶³ vorausberechneten Löslichkeiten. Bei Anwendung der Methode nach ALI *et al.*¹⁶⁴ wurden dagegen bei allen NeuSIG enthaltenden Anilinopyrimidinen zu niedrige Löslichkeiten vorhergesagt (Tabelle 6-8).

Als Beispiel für diese generellen Beobachtungen kann die Verbindung **31g** aufgeführt werden, bei der die cS_{ESOL} mit 32.4 μM der experimentellen $S_{\text{kin., pH 7.4}}$ mit 25.2 μM sehr nahe kam. Eine größere Abweichung lag zu dem vorhergesagten Wert nach ALI *et al.*¹⁶⁴ vor ($cS_{\text{ALI}} = 6.61 \mu\text{M}$). Diese starke Abweichung dürfte wieder durch die Überwertung des hohen TPSA-Werts der Azetidinsulfamidteilstruktur hervorgerufen worden sein. Die kinetische Löslichkeit des unsubstituierten Anilinopyrimidins **30c** hingegen war höher als nach der Yalkowsky-Gleichung ($S_{\text{Yalkowsky}} = 2.66 \mu\text{M}$) vorhergesagt wurde. Sie entsprach aber nahezu der vorhergesagten Löslichkeit mit ESOL¹⁶³ und ALI *et al.*¹⁶⁴

Tabelle 6-8: Vorhergesagte und experimentell bestimmte kinetische Löslichkeit der Anilinopyrimidine **30a–c**, **31a–c**, **31e–i**, **51** und **52** bei pH 7.4.

							
	R ¹	R ²	R ³	S _{Yalkowsky} (μM) ^a	cS _{ESOL} (μM) ^b	cS _{Ali} (μM) ^c	S _{kin., pH 7.4} (μM) ^d
30a	OH	H	-	8.71	75.9	41.7	112 (109–114)
30b	OH	OCH ₃	-	4.90	64.6	28.8	92.6 (92.4–92.8)
30c	H	H	-	2.66	55.0	47.9	50.3 (48.5–52.0)
31a	-	H		335	30.9	15.5	25.3
31b	-	H		200	45.7	14.1	19.6 (18.8–20.4)
31c	-	OCH ₃		257	25.1	10.5	21.4 (20.7–22.1)
31e	-	OCH ₃		269	13.2	1.95	26.7 (26.0–26.7)
31f	-	H		55	16.2	2.82	25.3 (23.8–26.8)
31g	-	H		77	32.4	6.61	25.2 (20.2–30.2)
31h	-	OCH ₃		316	38.0	9.77	25.0 (24.4–25.7)
31i	-	OCH ₃		507	26.3	4.47	34.2 (31.0–36.9)

Fortsetzung der Tabelle 6-8: Vorhergesagte und experimentell bestimmte kinetische Löslichkeit bei pH 7.4 der Anilinopyrimidine **30a–c**, **31a–c**, **31e–i**, **51** und **52**.

	R ¹	R ²	R ³	S _{Yalkowsky} (μM) ^a	cS _{ESOL} (μM) ^b	cS _{Ali} (μM) ^c	S _{kin., pH 7.4} (μM) ^d
51	-	H		11.6	21.9	17.4	50.3 (42.1–58.6)
52	-	OCH ₃		11.0	18.2	11.8	n.b.

a: Angabe der vorhergesagten Löslichkeit nach der Yalkowsky-Gleichung in μM. In die Gleichung wurde der Mittelwert der clogP-Wert nach MarvinSketch¹⁵⁹ und SILICOS-IT¹¹⁴ eingesetzt; b: Löslichkeitsvorhersage mit ESOL¹⁶³ (cS_{ESOL} in μM), berechnet mit SwissADME¹¹⁴; c: Löslichkeitsvorhersage mit ALI *et al.*¹⁶⁴ (cS_{Ali} in μM); d: Angabe der kinetischen Löslichkeit (S_{kin., pH 7.4} in μM) in einer natriumchloridhaltigen Phosphatpufferlösung pH 7.4 (Spannweite einer Doppelbestimmung).

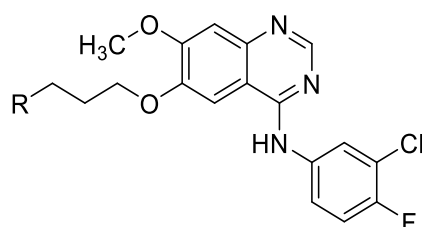
Lediglich die Verbindung **51** mit einer Morpholinopartialstruktur zeigte mit einer S_{kin., pH 7.4} von 50.3 μM eine vergleichbare kinetische Löslichkeit zum unsubstituierten Anilinopyrimidin **30c**.

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass bei den untersuchten Anilinopyrimidinen weder die Einführung von *N*-alkylierten Sulfamiden noch von Morpholinogruppen zu einer Verbesserung der kinetischen Löslichkeit im Vergleich zum unsubstituierten Anilinopyrimidin **30c** führten, obwohl die modifizierten Verbindungen erniedrigte clogP-Werte aufwiesen.

Auch die NeuSIG enthaltenden Anilinochinazoline **7b–i** wurden hinsichtlich ihrer kinetischen Löslichkeit untersucht (Tabelle 6-9). Nach der Yalkowsky-Gleichung wurde für die Verbindungen **7b–i** eine Verbesserung der Löslichkeit vorhergesagt. Dabei wiesen u. a. die Verbindungen **7b** und **7c** eine Verbesserung der vorhergesagten Löslichkeit um den Faktor 18 (S_{Yalkowsky} = 184 μM für **7b**, S_{Yalkowsky} = 158 μM für **7c**) im Vergleich zu Gefitinib (S_{Yalkowsky} = 8.51 μM) auf. Die Löslichkeitsvorhersage mit ESOL¹⁶³ und ALI *et al.*¹⁶⁴ ergab für **7b**, **7c** und **7g** eine vergleichbare Löslichkeit zu **7a**, wobei die vorhergesagten Werte deutlich unter denen nach Yalkowsky lagen. Die hohen Unterschiede der Löslichkeitsvorhersage zwischen den einzelnen Modellen beruht auf der Berücksichtigung und Gewichtung verschiedener physikochemischen Parameter. So führt nach

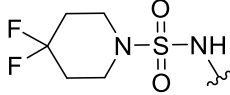
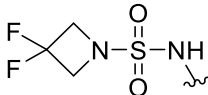
ALI *et al.*¹⁶⁴ ein hoher TPSA-Wert zu einer niedrigen Löslichkeitsvorhersage, obwohl bei den entsprechenden Verbindungen gleichzeitig der clogP-Wert abnimmt.

Tabelle 6-9: Vorhergesagte und experimentell bestimmte kinetische Löslichkeit bei pH 7.4 der Anilinochinazoline **7a–i**.



	R	$S_{\text{Yalkowsky}}$ (μM) ^a	cS_{ESOL} (μM) ^b	cS_{Ali} (μM) ^c	$S_{\text{kin., pH 7.4}}$ (μM) ^d
7a		8.51	8.91	5.50	58.6 (56.2–61.1)
7b		184	12.9	5.01	26.7 (25.1–28.3)
7c		158	19.1	4.57	44.1 (40.2–48.0)
7d		104	1.82	0.14	19.4 (16.3–23.9)
7e		20.0	3.31	0.389	24.5 (23.7–25.3)
7f		66.8	6.61	0.891	42.4 (39.9–44.9)
7g		119	13.2	2.14	47.6 (46.1–49.1)

Fortsetzung der Tabelle 6-9: Vorhergesagte und experimentell bestimmte kinetische Löslichkeit bei pH 7.4 der Anilinochinazoline **7a–i**.

	R	$S_{\text{Yalkowsky}}$ (μM) ^a	cS_{ESOL} (μM) ^b	cS_{Ali} (μM) ^c	$S_{\text{kin., pH 7.4}}$ (μM) ^d
7h		17.2	1.32	0.18	19.6 (18.0–21.3)
7i		20.0	5.37	1.02	4.82 (4.72–4.92)

a: Angabe der vorhergesagten Löslichkeit nach der Yalkowsky-Gleichung in μM . In die Gleichung wurde der Mittelwert der clogP-Werte nach MarvinSketch¹⁵⁹ und SILICOS-IT¹¹⁴ eingesetzt; b: Löslichkeitsvorhersage mit ESOL¹⁶³ (cS_{ESOL} in μM), berechnet mit SwissADME¹¹⁴; c: Löslichkeitsvorhersage mit ALI *et al.*¹⁶⁴ (cS_{Ali} in μM); d: Angabe der kinetischen Löslichkeit ($S_{\text{kin., pH 7.4}}$ in μM) in einer natriumchloridhaltigen Phosphatpufferlösung pH 7.4 (Spannweite einer Doppelbestimmung).

Im Allgemeinen stimmten bei den Anilinochinazolinen die Ergebnisse der kinetischen Löslichkeitsmessung mit den Vorhersagen nach Yalkowsky, ESOL¹⁶³ oder ALI *et al.*¹⁶⁴ nicht überein. Ausnahmen stellten die Verbindungen **7e** und **7h** dar, bei denen die Anwendung der Yalkowsky-Gleichung eine sehr gute Abschätzung der kinetischen Löslichkeit ergab.

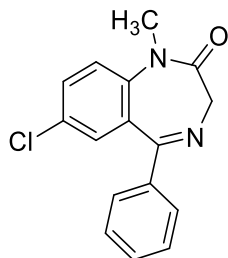
Weiterhin wurden bei **7h** und **7i** die *N*-alkylierten Sulfamidelemente mit Fluoratomen substituiert, denn Xia *et al.*¹⁶⁸ berichteten über die Erhöhung der Löslichkeit durch die Einführung von Fluoratomen, trotz Zunahme des clogP-Werts.¹⁶⁹ Obwohl die clogP-Werte von **7h** und **7i** einen im Vergleich zu Gefitinib höheren Wert aufwiesen, wurde bei diesen Verbindungen keine Verbesserung der kinetischen Löslichkeit erreicht.

6.4 Fazit

Die NeuSIG enthaltenden Verbindungen wurden hinsichtlich ihrer physikochemischen Eigenschaften untersucht. Sowohl die thermodynamische als auch die kinetische Löslichkeit wurden experimentell bestimmt und mit der vorhergesagten Löslichkeit verglichen. Während die thermodynamische Löslichkeit aufgrund des hohen experimentellen Zeitaufwands eher zum Ende der Entwicklung eines Arzneistoffs bestimmt wird, stellt die kinetische Löslichkeit einen schnell bestimmbaren Parameter dar, der sich für orientierende Untersuchungen im Rahmen des *hit-to-lead* Prozesses eignet.^{33, 34} Durch den Zusatz eines Cosolvens bei der Bestimmung ist die kinetische Löslichkeit jedoch kritisch zu betrachten, da sie zumeist höher als die thermodynamische Löslichkeit ist.³⁸ Durch die Einführung von *N*-alkylierten Sulfamiden in Strukturen der Anilinopyrimidine **30a–b** und dem Anilinochinazolin **7a** wurden die Vorhersagen der physikochemischen Parameter modifiziert. Beispielsweise wurde ein niedriger clogP-Wert, ein höherer TPSA-Wert und ein erhöhter Fsp³-Wert vorausberechnet. Nach der Yalkowsky-Gleichung (Gleichung 6-1) führte eine Reduzierung des clogP-Werts bei gleichbleibendem Schmelzpunkt zu einer Erhöhung der vorhergesagten Löslichkeit. Diese Prognose wurde jedoch für die NeuSIG enthaltenden Verbindungen nicht bestätigt. Die Löslichkeitsvorhersagen mit ESOL¹⁶³ und nach ALI *et al.*¹⁶⁴ ergaben keine zuverlässigen Werte. Zwar wurde mit ESOL¹⁶³ für die NeuSIG enthaltenden Anilinopyrimidine die experimentell bestimmte kinetische Löslichkeit relativ gut vorhergesagt, jedoch traf dies nicht für die NeuSIG enthaltenden Anilinochinazoline zu. Daher sind die im Rahmen dieser Arbeit verwendeten Vorhersagemodelle für die Löslichkeit kritisch zu hinterfragen. Ursache hierfür könnten die zur Entwicklung der Methoden verwendeten *training sets* sein, bei denen Moleküle mit relativen Molmassen von größer als 500 nicht oder nur unzureichend berücksichtigt wurden.¹⁶³

Beispiele für eine unpräzise Vorhersage der Löslichkeit sind die in Abbildung 6-2 dargestellten Verbindungen Diazepam (**57**) und Fenofibrat (**58**). Für diese Verbindungen wurde eine Löslichkeit im Bereich löslich bzw. moderat löslich vorhergesagt. Experimentell wurde für beide Verbindungen eine höhere kinetische Löslichkeit im Vergleich zu den vorhergesagten Löslichkeiten bestimmt. Während für **57** nach ALI *et al.*¹⁶⁴ eine Löslichkeit in derselben Größenordnung wie die

experimentell bestimmte kinetische Löslichkeit vorhergesagt wurde, traf dies für **58** nicht zu. KASIM *et al.*¹⁷⁰ bezeichnen **57** und **58** als praktisch unlösliche Verbindungen.



Diazepam (**57**)

Schmp. = 131–133 °C

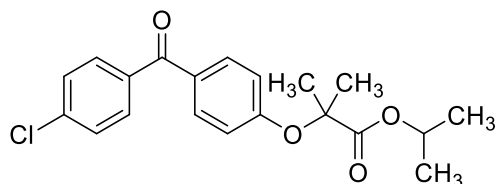
clogP^a = 4.12

S_{Yalkowsky}^b = 19.9 µM

cS_{ESOL}^c = 135 µM

cS_{Ali}^d = 457 µM

S_{kin., pH 7.4}^e = 733 µM (721–744 µM)



Fenofibrat (**58**)

Schmp. = 80–81 °C

clogP^a = 4.95

S_{Yalkowsky}^b = 9.77 µM

cS_{ESOL}^c = 5.89 µM

cS_{Ali}^d = 0.95 µM

S_{kin., pH 7.4}^e = 77.7 µM (75.1–80.3 µM)

Abbildung 6-2: Physikochemische Parameter für Diazepam (**57**) und Fenofibrat (**58**). a: clogP-Werte aus der SILICOS-IT-Vorhersage nach SwissADME¹¹⁴; b: Angabe der vorhergesagten Löslichkeit nach der Yalkowsky-Gleichung in µM mit dem clogP-Wert nach SILICOS-IT¹¹⁴; c: Löslichkeitsvorhersage mit ESOL¹⁶³ (cS_{ESOL} in µM), berechnet mit SwissADME¹¹⁴; d: Löslichkeitsvorhersage mit Ali *et al.*¹⁶⁴ (cS_{Ali} in µM); e: Angabe der kinetischen Löslichkeit (S_{kin., pH 7.4} in µM) in einer natriumchloridhaltigen Phosphatpufferlösung pH 7.4 (Spannweite einer Doppelbestimmung).

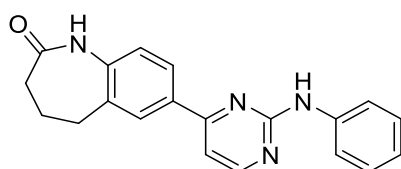
Die biologische Aktivität hingegen blieb durch die Einführung der NeuSIGs in Strukturen der Anilinopyrimidine und Anilinochinazoline erhalten. Die Anforderungen für potentiell oral applizierbare klinische Kandidaten in Bezug auf die LLE- und die LE-Werte konnte insbesondere bei nahezu allen NeuSIG enthaltenden Anilinochinazolinen erfüllt werden.

7 Zusammenfassung

Neue Arzneistoffe werden häufig aus Wirkstoffen entwickelt, die in einem Hochdurchsatz-Verfahren (engl. *high throughput screening*, HTS) identifiziert wurden. Diese Substanzen weisen oft eine hohe Molmasse und eine schlechte Wasserlöslichkeit auf. Im Laufe des Optimierungsprozesses hin zu einem klinischen Arzneistoffkandidaten wird meist die Molmasse weiter erhöht und dadurch die Wasserlöslichkeit noch stärker vermindert. Für die Anwendung als oral applizierbarer Arzneistoff ist jedoch eine ausreichende Wasserlöslichkeit eine notwendige Voraussetzung.

Zur Verbesserung der Wasserlöslichkeit können ionisierbare Gruppen in die Moleküle eingebracht werden. Diese Strukturelemente bedingen jedoch oft weitere Nachteile. Beispielsweise interagieren basische Aminogruppen häufig mit hERG-Ionenkanälen, was zu unerwünschten kardialen Nebenwirkungen führen kann.

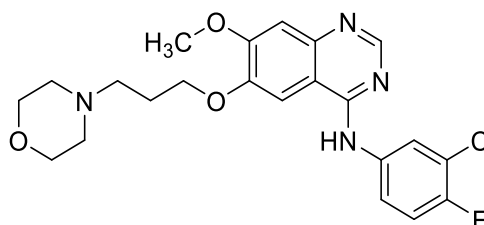
Vor diesem Hintergrund wurde in der hier vorgelegten Arbeit untersucht, ob sich *N*-alkylierte Sulfamide als neutrale Löslichkeitsverbessernde Gruppen (engl. *neutral solubility improving groups*, NeuSIGs) eignen. Als Beispielstrukturen für Wirkstoffe wurden dazu zwei Serien von Proteinkinase-Inhibitoren herangezogen. Erstens die Anilinopyrimidine wie **30c**, die die Aurora-Kinase A hemmen und daher potentiell zur Entwicklung von Antitumorstoffen dienen könnten. Zweitens wurde der etablierte Arzneistoff Gefitinib (**7a**) modifiziert, der als Hemmstoff der epidermalen Wachstumsfaktor-Rezeptorkinase (engl. *epidermal growth factor receptor*, EGFR) gegen bestimmten Formen von Lungenkrebs eingesetzt wird.



30c

IC_{50} Aurora A = $3.6 \cdot 10^{-6}$ M

$S_{kin., pH 7.4} = 5.0 \cdot 10^{-5}$ M



Gefitinib (**7a**)

IC_{50} EGFR = $2.4 \cdot 10^{-10}$ M

$S_{kin., pH 7.4} = 5.9 \cdot 10^{-5}$ M

An diesen Beispielen wurde untersucht:

- a) ob sich durch *molecular docking*-Studien vorhersagen lässt, an welchen Positionen in den Molekülen NeuSIGs eingeführt werden können, ohne die biologische Aktivität zu verringern,
- b) ob die so konzipierten Verbindungen verbesserte Wasserlöslichkeit aufweisen,
- c) ob Berechnungsmethoden zur Vorhersage der Löslichkeit auf der Grundlage von Strukturdaten bei diesen Substanzen realistische Werte ergeben.

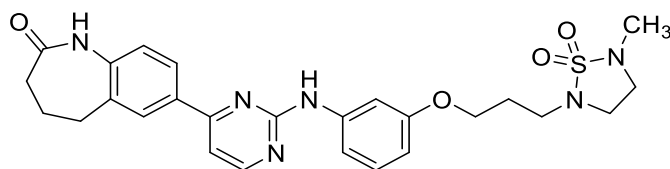
Docking-Untersuchungen mit Ligand-Rezeptor-Komplexen legten für die Grundstruktur **30c** eine Anknüpfung von NeuSIG-Elementen am Phenylrest nahe. Bei Gefitinib (**7a**) wurde ein Austausch der Morpholinoteilstruktur als kompatibel mit der biologischen Wirkung vorhergesagt.

Theoretische Berechnungsmethoden prognostizierten für die so konzipierten Moleküle zwar niedrigere Lipophilie, jedoch nicht in jedem Fall eine bessere Löslichkeit in wässrigen Systemen. Die Synthese und experimentelle Untersuchung der Verbindungen bestätigte einerseits den Erhalt der biologischen Aktivität. Andererseits wurde keine generelle Verbesserung der Wasserlöslichkeit durch den Einbau von Sulfamidstrukturen beobachtet. Dies wird auf die deutliche Zunahme der polaren Oberfläche (engl. *topological polar surface area*, TPSA) der Moleküle durch die zusätzliche Sulfamidstruktur zurückgeführt. An den so erarbeiteten Beispielen konnte demonstriert werden, dass verschiedene Vorhersagemethoden für Wasserlöslichkeit stark abweichende Resultate ergeben können, die sich auch von den experimentell bestimmten Eigenschaften deutlich unterscheiden. Weiterhin wurde gezeigt, dass die untersuchten Strukturen durchweg höhere kinetische als thermodynamische Löslichkeitswerte aufweisen.

Aus der vorgelegten Arbeit resultierten als besonders interessante neue Verbindungen das Anilinopyrimidin **31a** und das Anilinochinazolin **7b**.

31a ist ein neuer Inhibitor der Aurora-Kinase A mit Selektivität gegenüber weiteren, ebenfalls getesteten Kinasen. **7b** ist ein extrem potenter EGFR-Hemmstoff, der ein ähnliches Selektivitätsprofil wie der Arzneistoff Gefitinib (**7a**) aufweist. Für beide Strukturen wurde bei der Anwendung der

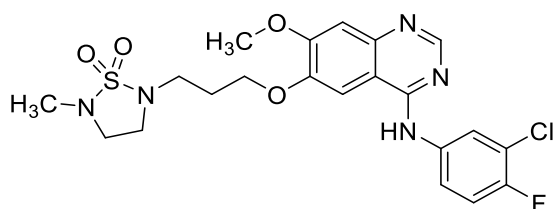
General Solubility Equation (GSE) nach Yalkowsky eine Zunahme der Löslichkeit im Vergleich zu **30c** bzw. **7a** vorhergesagt. Die experimentellen Untersuchungen widerlegten diese Prognosen. Sowohl bei **31a** als auch bei **7b** lag die tatsächlich ermittelte Löslichkeit zwar in derselben Größenordnung, jedoch bei niedrigeren Konzentrationswerten als bei den jeweiligen Vergleichsstrukturen **30c** bzw. **7a**.



31a

IC_{50} Aurora A = $1.8 \cdot 10^{-6}$ M

$S_{kin., pH\ 7.4}$ = $2.5 \cdot 10^{-5}$ M



7b

IC_{50} EGFR = $3.9 \cdot 10^{-10}$ M

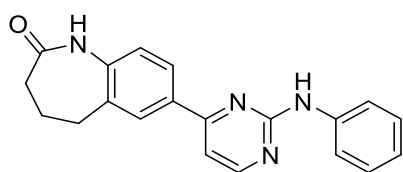
$S_{kin., pH\ 7.4}$ = $2.7 \cdot 10^{-5}$ M

8 Summary

New drugs are usually developed from compounds identified by high throughput screening (HTS) campaigns. These substances often display a high molecular weight and poor aqueous solubility. During the optimization process towards a clinical drug candidate, the molar mass is usually further increased, thereby reducing the aqueous solubility even more. However, sufficient aqueous solubility is a necessary prerequisite for use as an orally administered drug.

Ionizable groups can be introduced into the molecules to improve the aqueous solubility. However, these structural elements often cause disadvantages. For example, basic amino groups may interact with hERG channels, which can lead to undesirable cardiac side effects.

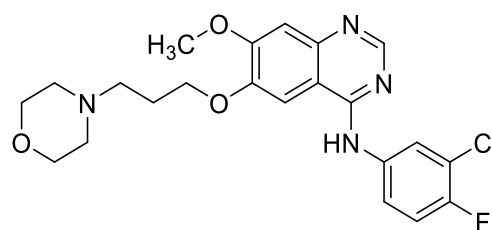
Against this background, the present study investigated whether *N*-alkylated sulfamides are suitable as neutral solubility improving groups (NeuSIGs). Two series of protein kinase inhibitors were used as example structures for active substances: First, anilinopyrimidines such as **30c**, which inhibit aurora kinase A and could therefore potentially serve as antitumor drugs. Secondly, the established drug gefitinib (**7a**) was modified, which is an inhibitor of the epidermal growth factor receptor kinase (EGFR) and is used as a drug against certain forms of lung cancer.



30c

IC_{50} Aurora A = $3.6 \cdot 10^{-6}$ M

$S_{kin., pH 7.4} = 5.0 \cdot 10^{-5}$ M



Gefitinib (**7a**)

IC_{50} EGFR = $2.4 \cdot 10^{-10}$ M

$S_{kin., pH 7.4} = 5.9 \cdot 10^{-5}$ M

The two compounds were selected to investigate:

- a) whether molecular docking studies can predict at which positions in the molecules NeuSIGs can be introduced without reducing the biological activity
- b) whether the designed compounds display improved aqueous solubility
- c) whether calculation methods for predicting solubility based on structural data generate realistic values for these compounds.

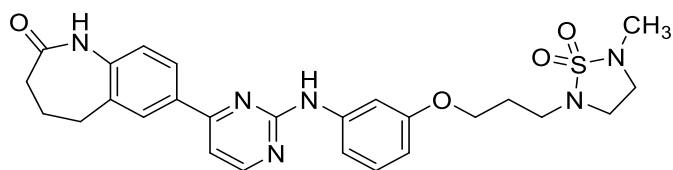
Docking studies with ligand-receptor complexes suggested that NeuSIG elements of the basic structure **30c** could be attached to the phenyl substituent. For gefitinib (**7a**), an exchange of the morpholine substructure was predicted to be compatible with the biological efficacy.

Theoretical calculation methods predicted lower lipophilicity for the molecules designed in this way, but not always better solubility in aqueous systems. On the one hand, the synthesis and experimental investigation of the compounds confirmed the preservation of the biological activity. On the other hand, no general improvement of the aqueous solubility by the incorporation of sulfamide elements was observed. This is attributed to the significant increase in the topological polar surface area (TPSA) of the molecules due to the additional sulfamide structure. These examples demonstrate that different methods of predicting aqueous solubility can yield very divergent results, which also deviate significantly from the experimentally determined properties. Furthermore, it was shown that the investigated structures all present higher kinetic than thermodynamic solubility values.

The anilinopyrimidine **31a** and the anilinoquinazoline **7b** were identified as particularly interesting new compounds.

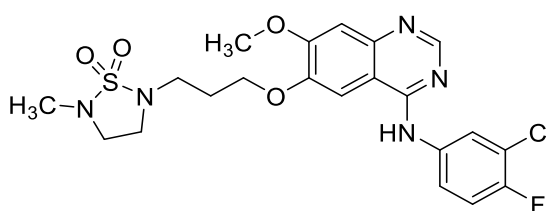
31a is a new inhibitor of the aurora kinase A with selectivity towards other kinases which were also tested. **7b** is an extremely potent EGFR inhibitor with a similar selectivity profile as the drug gefitinib (**7a**). For both structures, an increase in solubility was predicted in comparison to **30c** or **7a** when applying the General Solubility Equation (GSE) according to Yalkowsky. The experimental investigations disproved these predictions. For both **31a** and **7b** the kinetic

solubility was of the same order of magnitude, but with lower values of concentration than for the respective comparison structures **30c** and **7a**.

**31a**

IC_{50} Aurora A = $1.8 \cdot 10^{-6}$ M

$S_{kin., pH 7.4} = 2.5 \cdot 10^{-5}$ M

**7b**

IC_{50} EGFR = $3.9 \cdot 10^{-10}$ M

$S_{kin., pH 7.4} = 2.7 \cdot 10^{-5}$ M

9 Experimenteller Teil

9.1 Geräte und Methoden

Ausgangsstoffe und Chemikalien

Die von KOHFELD¹⁵⁰ synthetisierten *N*-Phenylguanidiniumnitrate (**40a–c**) und die 2-Anilinopyrimidine **30c–d**, synthetisiert von BERGER¹³², lagen in der Arbeitsgruppe vor. Der Bezug weiterer Ausgangsstoffe und Chemikalien erfolgte bei Alfa Aesar (Karlsruhe, Deutschland), Acros Organics (Geel, Belgien), chemPUR Feinchemikalien und Forschungsbedarf GmbH (Karlsruhe, Deutschland), BLDpharm (Shanghai, China) oder Sigma-Aldrich (Steinheim, Deutschland).

Dünnschichtchromatographie

DC-Fertigfolien Polygram® Sil G/UV₂₅₄, 0.2 mm Silikagelschicht 60 mit Fluoreszenzindikator auf Polyester mit einer Größe von 40 x 80 mm, Fa. Macherey-Nagel (Düren, Deutschland). Die Detektion erfolgte unter Verwendung von UV-Licht bei 254 nm (UV-Kabinett, CAMAG, Muttenz, Schweiz). Als Laufmittel wurden in verschiedenen Verhältnissen meist Gemische aus Ethylacetat und Petrolether verwendet, welche ggf. mit Essigsäure bei sauren Verbindungen oder Triethylamin bei basischen Verbindungen versetzt wurden.

Elementaranalytik

CE Instruments Flash EA® 1112 Elemental Analyzer, Fa. Thermo Quest (San José, CA, USA); Angabe der berechneten (ber.) und gefundenen (gef.) Werte in Prozent. Die gefundenen (gef.) Werte wurden in der Regel als Mittelwert aus einer Doppelbestimmung angegeben und weisen in der Regel eine maximale Abweichung von ± 0.5 Prozent zu den ber. Werten auf.

Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC), analytisch

HPLC-1: Merck Hitachi LaChrom Elite®: Pumpe L-2130, Autosampler L-2200, Säulenofen L-2300 (eingestellt auf 40 °C), *diode array detector* (DAD) L-2450, Organizerbox L-2200; Software: EZChrom Elite, Version 3.3.2 SP2, Fa. Hitachi High-Tech Science Corporation (Tokio, Japan). Säulenhalter: LiChroCART 125-4, Säule: LiChrospher 100 RP-18 (5 μ m), Fa. Merck (Darmstadt, Deutschland).

HPLC-2: VWR Hitachi Chromaster: Pumpe 5110, Autosampler 5260, Säulenofen 5310 (eingestellt auf 40 °C), DAD 5430; Software: Chromaster System Manager Version 1.1, Fa. Hitachi High-Tech Science Corporation (Tokio, Japan). Säulenhalter: LiChroCART 125-4, Säule: LiChrospher 100 RP-18 (5 µm), Fa. Merck (Darmstadt, Deutschland).

Probenvorbereitung: Etwa 0.5 mg der Probe wurden in 300–400 µL DMSO in einem Whatman Mini-UniPrep® Vial gelöst. Eine Filtration erfolgte innerhalb der Vials durch den integrierten Mini-UniPrep®-Filter (Whatman).

Elutionsmittel: Isokratische Elution: Als Fließmittel wurden Acetonitril-Wassergemische (ACN/Wasser) und Acetonitril-Puffergemische (ACN/Puffer) in verschiedenen Zusammensetzungen verwendet. Der verwendete Triethylammoniumsulfat-Puffer pH 2.7 wurde aus Natriumhydroxid (242 mg) und Triethylamin (20.0 mL) in bidestilliertem Wasser (980 mL) hergestellt. Die pH-Einstellung erfolgte mit konz. Schwefelsäure. Für die Gradientenelution wurden ACN/H₂O-Gemische nach folgendem Schema variiert: 0–2 min: 10% ACN, 2–12 min: 10% → 90% ACN (linear); 12–20 min: 90% ACN.

Elution: Für die angestrebte Absorption zwischen 300 und 1500 mAU wurden von der Probenlösung Volumina zwischen 2–25 µL injiziert; Flussrate: 1.000 mL/min; Laufzeit: 8–15 min (isokratische Elution) oder 20 min (Gradientenelution).

Detektion: isokratische Elution: DAD bei 254 nm und 280 nm; Gradientenelution: UV bei 254 nm.

Auswertung: Aus dem Chromatogramm wird die Gesamtretentionszeit (t_{M+S}) und die Totzeit (t_M , bezogen auf DMSO) bestimmt. Anwendung der 100%-Methode nach Peakflächenintegration; Integrationsausschluss von 0–2.0 min; *threshold*: 1000 (HPLC-1), *sensitivity*: 50 (HPLC-2); Angabe der Absorptionsmaxima (λ_{max}) aus den UV-Spektren des DAD.

HPLC, präparativ

HPLC: LaPrep P 110 Präparative HPLC Pumpe, LaPrep P 311 Spektralphotometer, LaPrep P 216 Fraktionssammler, Probenschleife (max. Injektionsvolumen: 5 mL), Säulenrohrlänge 125 mm, Selbstfüllstand NW 25, Säulenmaterial: LiChrospher 100 RP-18, 12 μ M, Fa. Merck (Darmstadt, Deutschland). Software: EZChrom Elite, Version 3.1.4.

Probenvorbereitung: Die Probe (etwa 20–60 mg) wurde in 4 mL eines Gemisches aus DMSO und Elutionsmittel gelöst, wobei möglichst geringe Mengen an DMSO verwendet wurden.

Elution: Eine *sandwich*-Injektion wurde durchgeführt. Nach dem Spülen der Probenschleife mit 500 μ L DMSO wurden 4 mL Probe und anschließend 500 μ L DMSO injiziert. Flussrate: 40 mL/min; Laufzeit: 20–60 min.

Elutionsmittel: ACN/Wasser (bidest.)-Gemische in unterschiedlichen Zusammensetzungen.

Detektion: UV-Detektion: 254 nm.

Infrarotspektroskopie (IR)

Vermessung von festen (als KBr-Presslinge) oder flüssigen (NaCl-Fenster) Proben; Nicolet FT-IR 200 Spektrometer, Fa. Thermo Nicolet (Madison, WI, USA).

Inkubationsschüttler

IKA® KS 3000 ic control angeschlossen an einen externen Kühler IKA® KV 600 digital – 230 V, Fa. IKA-Werke GmbH & Co. KG (Staufen, Deutschland).

Massenspektrometrie (MS)

Finnigan-MAT 95XL, Fa. Thermo Finnigan MAT (Bremen, Deutschland); LTQ-Orbitrap Velos, Fa. ThermoFischer Scientific, (Bremen, Deutschland). Aufnahme von Elektronenstoß-Ionisation (EI-MS), Elektronenspray-Ionisation (ESI-MS) und hochaufgelösten Elektronenstoß- bzw. Elektronenspray-Ionisation (HRMS-EI bzw. HRMS-ESI) erfolgte am Institut für Organische Chemie in der Abteilung der Massenspektrometrie der TU Braunschweig.

EI-MS: Doppel-fokussierende Sektorfeld-Massenspektrometer, Auflösung 2000, Ionisationsenergie 70 eV, Scan 40–1000 amu, *source temperature* 180 °C; HRMS-EI: Interner Massenstandard Perfluorkerosin, Auflösung 10000; ESI-MS: Ionenfallen-Massenspektrometer gekoppelt mit Orbitrap, Auflösung 100000 FWHM (*Full Width at Half Maximum*) bei $m/z = 400$ amu, Scan: 130–2000 amu; HRMS-ESI: Interner Massenstandard Tetradecyltrimethylammoniumbromid (0.1 mg/mL), verdünnt zu einer Konzentration von etwa 50 µg/mL in dem Lösungsmittel Methanol, Zufuhr durch Direktinfusion, Flussrate: 1 µL/min, Sprühspannung im positiven Modus: 2.3–2.8 kV, Sprühspannung in negativen Modus: 1.7–2.5 kV; Auswertung: Angabe Molekülradikalkation $[M]^{•+}$ (EI) oder $[M+H]^+$ (ESI) und der gefundenen (gef.) Massen für das Molekül. Die max. Abweichung der gef. Massen zu den berechneten (ber.) Massen liegt bei ± 5 ppm.

Benchtop-MS: expression^L CMS Spektrometer, Fa. Advion (Ithaca, NY, USA). Angewendet wurde die ASAP-Technik (engl. *atmospheric solids analysis probe*), die eine direkte Probenzufuhr in die APCI-Ionenquelle (engl. *atmospheric pressure chemical ionization*) ermöglicht. Eine weitere Möglichkeit der Probenzufuhr besteht durch eine direkte DC-MS-Kopplung (Plate Express, Fa. Advion). Daneben kann als Ionenquelle die ESI verwendet werden. Hierfür wird eine Lösung der Verbindung (ca. 50 µg) in Methanol (1 mL) unter Zusatz von etwa 10 µL Ameisensäure hergestellt und via Direkteinspritzung vermessen. Die Messung wurde im positiven oder negativen Modus durchgeführt. Einstellungen für die APCI-Ionenquelle: *source gas temperature*: 350 °C, *APCI corona discharge*: 5.0 µA, *capillary temperature*: 250 °C, *capillary voltage*: 180 V (positiver Modus) bzw. 120 V (negativer Modus). Einstellungen für die ESI-Ionenquelle: *source gas temperature*: 250 °C, *capillary temperature*: 350 °C, *capillary voltage*: 180 V (positiver Modus) bzw. 120 V (negativer Modus), *spray voltage positive mode*: 3500 V, *spray voltage negative mode*: 2500 V; Advion Mass Express (Benutzersoftware) und Advion Data Express (Auswertungssoftware) in der Version 6.2.21.1.

Mikrowellen-Synthese

CEM Typ Discover, Fokussierte™ Mikrowellensynthese System; Chem Driver™ *application software program; synergy software, firmware version: DSCA02.22*; Reaktionsgefäße: 10 mL mit Teflonseptum (geschlossenes System), Fa. CEM GmbH (Kamp-Lintfort, Deutschland); Jun-Air®-Kompressor, Blue Line Model 4 (Fa. JUN-AIR International A/S, Nørresundby, Dänemark).

Nephelometer

NEPHELOStar® Plus; Omega 5.11 (Benutzersoftware) und MARS 3.20 (Auswertungssoftware); Fa. BMG LABTECH GmbH (Ortenberg, Deutschland).

NMR-Spektroskopie

Bruker Avance III 400 (^1H -NMR-Messung: 400 MHz; ^{13}C -NMR-Messung: 101 MHz), Bruker Avance IIIHD 500 (^1H -NMR-Messung: 500 MHz; ^{13}C -NMR-Messung: 126 MHz), Bruker Avance II 600 (^1H -NMR-Messung: 600 MHz; ^{13}C -NMR-Messung: 150 MHz), Fa. Bruker BioSpin GmbH (Rheinstetten, Deutschland); Aufnahme von NMR-Spektren am Institut für Organische Chemie/NMR-Labor der TU Braunschweig.

Lösungsmittel: DMSO- d_6 .

Interner Standard: Tetramethylsilan (TMS).

^1H -NMR: Chemische Verschiebungen (ppm) nach der δ_{TMS} -Skala. Die Integration der Signale ergibt die Protonenverhältnisse.

^{13}C -NMR: Chemische Verschiebungen (ppm) nach der δ_{TMS} -Skala. Die Zuordnung der Signale im aufgenommenen ^1H -breitbandentkoppelten ^{13}C -Spektrum erfolgte durch ^{13}C -DEPT135-Spektren. Kopplungen zwischen Kohlenstoff- und Fluoratomen ergeben im Spektrum ein Dublett (Kopplung mit einem Fluoratom) bzw. Triplett (Kopplung mit zwei Fluoratomen), für die Kopplungskonstanten angegeben wurden. Weiterhin entspricht die Angabe 2C einer Überlagerung zweier magnetisch äquivalenter Kohlenstoffatome.

Aufnahmen von 2D-Experimenten (^1H , ^1H -COSY, ^1H , ^{13}C -HSQC, ^1H , ^{13}C -HMBC, ^1H , ^{15}N -HMBC) als unterstützende Methoden für die Strukturaufklärung komplexer Signalmuster.

Die Signalmultiplizitäten wurden folgendermaßen angegeben: s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, q = Quartett, quint = Quintett, m = Multiplett, dd = Dublett vom Dublett, dt = Dublett vom Triplett, ddd = Dublett vom Dublett vom Dublett.

pH-Meter

632 pH-Meter mit Glaselektrode, Fa. Deutsche Metrohm GmbH Co. & Co. (Filderstadt, Deutschland).

Schmelztemperatur

Bestimmung der Schmelz- und Zersetzungstemperatur in einseitig geschlossenen Glaskapillaren mit einem digitalen Schmelzpunktbestimmungsgerät Electrothermal IA 9200, Fa. Cole-Parmer (Stone, Vereinigtes Königreich). Angabe des Schmelzpunkts (Schmp.) in °C.

Trocknen von Lösungsmitteln

Angelehnt an publizierte Vorschriften¹⁷¹ wurden die unten aufgeführten Lösungsmittel nach folgenden Methoden getrocknet:

Aceton: Wasserfreies Kaliumcarbonat (6.25 g) wurde in 250 mL Aceton suspendiert und 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach 24 h wurde der Ansatz destilliert. Hierbei wurde der Ansatz zunächst für 3 h zum Rückfluss erhitzt. Das destillierte Lösungsmittel wurde über Molekularsieb (4 Å) aufbewahrt.

Pyridin: 500 mL Pyridin wurden für 24 h über 20 g Kaliumhydroxid getrocknet und anschließend über Molekularsieb (4 Å) aufbewahrt.

In Uvasol®-Qualität wurde das Lösungsmittel DMF eingesetzt. Alle weiteren Lösungsmittel wurden ohne Vorbehandlung in ungetrockneter Form verwendet.

Waagen

Sartorius MC5 (Mikrowaage), Sartorius BP 161 P (Analysenwaage) und Sartorius BP 2100 S (Präzisionswaage), Fa. Sartorius (Göttingen, Deutschland).

9.2 Docking

Zur Darstellung von Protein-Ligand-Interaktionen wurden *docking*-Studien durchgeführt. Dabei wurden zunächst die jeweiligen Liganden in energieminimierter Form mit MOE 2018.01 konstruiert und als mol2-Datei gespeichert.¹⁷² Die Kristallstruktur der Aurora-Kinase A (PDB: 2WTV¹²⁹) bzw. der EGFR-Kinase (PDB: 4I22)¹⁴¹ wurden aus der *Protein Data Bank* entnommen. Weiterhin wurden zwei nicht-publizierte Kokristallstrukturen der Verbindungen **30c–d** in der Aurora-Kinase A für die *docking*-Untersuchungen verwendet (Gewinnung von Kokristallstrukturen durch den Arbeitskreis Prof. Dr. S. Knapp, Institut für Pharmazeutische Chemie, Goethe Universität Frankfurt am Main, Deutschland). In MOE wurde unter Verwendung der *QuickPrep*-Funktion die Kristallstruktur bearbeitet. Hierbei wurden die fehlenden Protonen ergänzt, Wassermoleküle außerhalb der Bindetasche entfernt, fehlerhafte Strukturen korrigiert und die Ausrichtungen einzelner Aminosäuren wie Asparagin, Glutamin und Histidin optimiert.¹⁷² Die so in MOE präparierte energieminimierte Form der Proteinkinase wurde als mol2-Datei gespeichert. Für die molekulardynamische Berechnung wurde das Kraftfeld AMBER 10: EHT (*assisted model building and energy refinement: extended Hueckel theory*) in MOE angewendet.¹⁷² Das *docking* wurde mit den nun bearbeiteten Liganden und der Proteinkinase auf der Benutzeroberfläche von Hermes (v 1.6.2) der Software GOLD (GOLD Suite v 5.2.2) durchgeführt.¹²⁰ Die Funktion *wizard* in Hermes ermöglicht die graduelle Vorgehensweise des *docking* mit GOLD. Fehlende Protonen der präparierten Proteinkinase wurden im ersten Schritt nach dem Hochladen der mol2-Datei in GOLD ergänzt. Sofern Wassermoleküle in der verwendeten Kokristallstruktur vorlagen, wurden die Wassermoleküle innerhalb der ATP-Bindetasche für die *docking*-Studien berücksichtigt. Alle weiteren Wassermoleküle wurden extrahiert. Weiterhin wurden die Liganden extrahiert. Der Interaktionsraum zwischen Originalligand und Protein wurde auf 10 Å festgelegt. Es wurden zehn *docking*-Durchläufe pro Ligand durchgeführt, wobei die Bewertung (*scoring function*) der generierten Posen auf dem *ChemScore*-Algorithmus über eine für Proteinkinasen typische *kinase template* Funktion definiert wurde und weiterhin ein frühzeitiger Abbruch des *docking*-Durchlaufs nicht zugelassen wurde (*allow early termination*). Neben der Erhöhung der *docking*-Genauigkeit (*docking accuracy*) auf 200%

wurde die Möglichkeit der Auffindung zusätzlicher *docking*-Posen aktiviert (*generate diverse solutions*; *cluster size* = 1; RMSD = 1.5 Å). Die Flexibilität des Liganden wurde durch die Funktion *flip pyramidal N* und *flip ring corners* and *flip all planar R-NR* aktiviert. Weiterhin wurde die Funktion *toggle* für die ausgewählten Wassermoleküle um die ATP-Bindetasche aktiviert. Für die Aurora-Kinase A wurden Wasserstoffbrückenbindungen zwischen Ligand und Protein festgelegt (*constraint*). Hierbei wurde eine Wasserstoffbrückenbindung zwischen der Anilin-NH-Gruppe und dem Carbonylsauerstoff Ala213 (gk+3) in der *hinge*-Region definiert. *Constraints* für die EGFR-Kinase wurden nicht definiert. Die Auswertung und Gestaltung der *docking*-Ergebnisse erfolgte mit Chimera 1.13.1.¹²⁸

9.3 Synthesen und analytische Daten

Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV) zur Darstellung von 2-Methyl-1,2,5-thiadiazolidin-1,1-dioxid-Derivaten **7b**, **31a**, **31c–d** und **50a–d** (AAV 1)

In Anlehnung an die Vorschrift von Kim *et al.*¹⁴² wird 2-Methyl-1,2,5-thiadiazolidin-1,1-dioxid (**34a**, 1.0 Äquivalent) in wasserfreiem *N,N*-Dimethylformamid (9–30 mL) gelöst. Diesem Ansatz wird portionsweise Natriumhydrid (1.2–1.6 Äquivalente, 60%ige Suspension in Paraffinöl) bei 0 °C zugegeben. Danach wird bei Raumtemperatur und unter N₂-Atmosphäre für 1 h gerührt. Anschließend wird der Ansatz erneut auf 0 °C temperiert und das Halogenalkan **42a**, **44a**, **45c**, **48** bzw. **49a** (0.03–1.3 Äquivalente) portionsweise zugegeben. Anschließend wird bei Raumtemperatur für 15–48 h unter Feuchtigkeitsausschluss (Trockenrohr mit Calciumchlorid) gerührt. Via Dünnschichtchromatographie wird der Reaktionsverlauf verfolgt. Nach der Umsetzung zum entsprechenden Produkt wird dem Reaktionsgemisch Wasser (10 mL) hinzugegeben und mit Ethylacetat (3 x 30 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchloridlösung (30 mL) gewaschen und über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet. Anschließend wird die organische Phase am Rotationsverdampfer zur Trockne eingengt. Ggf. wird der Rückstand umkristallisiert oder durch Säulenchromatographie über Kieselgel gereinigt.

AAV 2 zur Darstellung von *N*-alkylierten Sulfamid-Derivaten **7c–i**

Die Reaktionen werden unter Feuchtigkeitsausschluss durchgeführt. In Anlehnung an eine Vorschrift von KIM *et al.*¹⁴² wird das *N*-alkylierte Sulfamid (**34b–h**, 1.0 Äquivalent) in wasserfreiem *N,N*-Dimethylformamid (8–15 mL) gelöst. Portionsweise wird dem Ansatz Natriumhydrid (60%ige Suspension in Paraffinöl, 1.2–1.3 Äquivalente) hinzugegeben und im Eisbad (-5 °C, 5 min) gerührt. Nach Entfernen des Eisbades wird für 1 h unter N₂-Atmosphäre bei Raumtemperatur gerührt. Der Ansatz wird erneut in ein Eisbad gestellt und es wird portionsweise *N*-(3-Chlor-4-fluorphenyl)-6-(3-chlorpropoxy)-7-methoxychinazolin-4-amin (**48**, 0.1–0.2 Äquivalente) hinzugegeben. Nach 10-minütigem Rühren im Eisbad wird der Ansatz auf 100 °C erwärmt. Via Dünnschichtchromatographie wird der Reaktionsverlauf verfolgt. Nach erfolgter Umsetzung zum entsprechenden Produkt wird dem Reaktionsgemisch Wasser (10 mL) hinzugegeben und mit Ethylacetat (3 x 30 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und zur Trockne eingeeengt. Ggf. wird der Rückstand umkristallisiert oder säulenchromatographisch über Kieselgel gereinigt.

AAV 3 zur Darstellung der 7-[2-(Phenylamino)pyrimidin-4-yl]-1,3,4,5-tetrahydro-2*H*-1-benzazepin-2-one **30a–b** und **30e**

Die Synthese der 7-[2-(Phenylamino)pyrimidin-4-yl]-1,3,4,5-tetrahydro-2*H*-1-benzazepin-2-one erfolgte nach den beiden unten genannten Methoden nach BERGER.¹³²

Methode A:

7-[3-(Dimethylamino)acryloyl]-1,3,4,5-tetrahydro-2*H*-1-benzazepin-2-on (**38**, 1.0 Äquivalent), *N*-(Hydroxyphenyl)guanidiniumnitrat **40a–c** (1.0–1.2 Äquivalente) und Natriumhydroxid (1.0–1.2 Äquivalente) werden in wasserfreiem *N,N*-Dimethylformamid (4–8 mL) suspendiert. Anschließend erfolgt die Mikrowellensynthese für 60 min bei 175 °C (150 Watt, Maximaldruck: 290 psi). Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird der Ansatz zu Wasser (50 mL) zugegeben, der entstehende Niederschlag filtriert und mit Wasser (100 mL) gewaschen. Das Produkt wird ohne weitere Aufreinigung weiterverwendet.

Methode B:

7-[3-(Dimethylamino)acryloyl]-1,3,4,5-tetrahydro-2*H*-1-benzazepin-2-on (**38**, 1.0 Äquivalent), ein *N*-(Hydroxyphenyl)guanidiniumnitrat **40a–c** (1.0 Äquivalent) und Natriumhydroxid (1.2 Äquivalente) werden in 2-Propanol (4 mL) suspendiert. Anschließend erfolgt die Mikrowellensynthese für 1 h bei 140 °C (150 Watt, Maximaldruck: 50 psi). Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird der entstehende Niederschlag abgesaugt und mit Wasser (100 mL) gewaschen. Das Produkt wird ohne weitere Aufreinigung weiterverwendet.

AAV 4 zur Darstellung von *N*-alkylierten Sulfamid-Derivaten **31b** und **31f–i**

Nach einer modifizierten Vorschrift von JIANG *et al.*¹⁵⁴ wird das Halogenalkan **45b** bzw. **45c** (1.0 Äquivalent) in wasserfreiem *N,N*-Dimethylformamid (9 mL) gelöst. Bei Raumtemperatur werden unter Rühren nacheinander Kaliumcarbonat (4–5 Äquivalente), das *N*-alkylierte Sulfamid **34b**, **34e** bzw. **34f** (4–5 Äquivalente) und Natriumiodid (0.6 Äquivalente) hinzugegeben. Die Suspension wird für 22–51 h auf 80 °C erhitzt. Dünnschichtchromatographisch wird der Reaktionsverlauf verfolgt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird der Suspension Wasser (9 mL) hinzugegeben und mit Ethylacetat (3 x 20 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser (2 x 50 mL) gewaschen, über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und zur Trockne eingeeengt. Das Produkt wird durch präparative HPLC in einem Acetonitril-Wasser-Gemisch in angegebener Zusammensetzung aufgereinigt.

AAV 5 zur Darstellung der Sulfamide **34b–f**

In Anlehnung an die Vorschrift von EBDEN *et al.*¹⁴⁴ werden Sulfamid (**32**, 1.0 Äquivalent) und die *N*-heterozyklische Verbindung (0.2–1.4 Äquivalente) in 1,4-Dioxan (15–25 mL) gelöst und für 24–48 h zum Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird das Lösungsmittel zur Trockne eingeeengt. Die Aufreinigung wird bei den entsprechenden Verbindungen beschrieben.

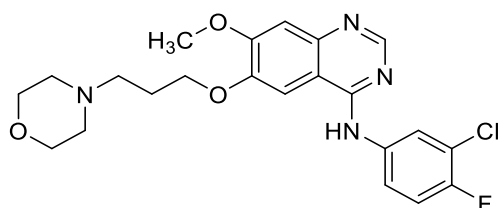
AAV 6 zur Darstellung der 2-Aryloxypropylbromid-Derivate

In Anlehnung an die Vorschrift von PRÜHS¹⁵³ werden die Hydroxy-Verbindung **42b** bzw. **44a–b** (1.0 Äquivalent) und Kaliumcarbonat (2.0 Äquivalente) zusammen in trockenem Aceton (5–8 mL) suspendiert. Zu dieser Suspension wird tropfenweise 1,3-Dibrompropan (10 Äquivalente) hinzugegeben und zum Rückfluss erhitzt. Dünnschichtchromatographisch wird der Reaktionsverlauf verfolgt. Nach erfolgter Umsetzung zum Produkt wird der Ansatz auf Raumtemperatur abgekühlt. Die vorliegende Suspension wird in Ethylacetat (15 mL) aufgenommen und mit Wasser (2 x 20 mL) gewaschen. Die organische Phase wird über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und zur Trockne eingeeengt. Der Ansatz wird aus dem angegebenen Lösungsmittel umkristallisiert oder säulenchromatographisch über Kieselgel gereinigt.

AAV 7 zur Darstellung der 2-Aryloxypropylchlorid-Derivate

Nach einer modifizierten Vorschrift von JIANG *et al.*¹⁵⁴ wird die Hydroxy-Verbindung **30a–b**, **30e** bzw. **47** (1.0 Äquivalent) in Acetonitril (15–40 mL) suspendiert. Nach Zugabe von Caesiumcarbonat (2.0 Äquivalente) wird der Ansatz für 30 min zum Rückfluss erhitzt. Zu der noch heißen Suspension wird tropfenweise 1-Brom-3-chlorpropan (**46**, 1.2–5.0 Äquivalente) hinzugegeben und 2–4 h zum Rückfluss erhitzt. Der Reaktionsverlauf wird dünnschichtchromatographisch verfolgt. Nach vollständiger Umsetzung der Edukte wird der Ansatz auf Raumtemperatur abgekühlt und das Lösungsmittel zur Trockne eingeeengt. Der Rückstand wird säulenchromatographisch über Kieselgel gereinigt.

N-(3-Chlor-4-fluorphenyl)-7-methoxy-6-[3-(morpholin-4-yl)propoxy]chinazolin-4-amin (Gefitinib, **7a**)

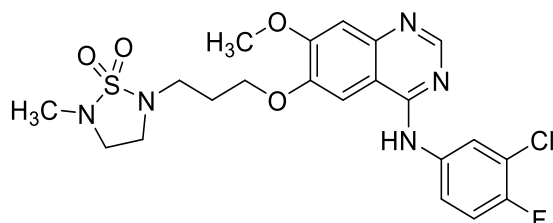


Nach einer modifizierten Vorschrift von KNESL *et al.*¹⁵⁶ wurde eine Suspension aus 4-[(3-Chlor-4-fluorphenyl)amino]-7-methoxychinazolin-6-ol (100 mg, 0.313 mmol) und Caesiumcarbonat (255 mg, 0.783 mmol) in wasserfreiem *N,N*-Dimethylformamid (9 mL) hergestellt und 20 min bei 40 °C erwärmt. Der noch heißen Suspension wurde portionsweise 4-(3-Chlorpropyl)morpholinhydrochlorid (63 mg, 0.32 mmol) hinzugegeben und für 8 h bei 80°C unter N₂-Atmosphäre erhitzt. Anschließend wurde die heiße Suspension in ein Eis-Wasser-Gemisch (20 mL) überführt und die klare Lösung mit Ethylacetat (4 x 20 mL) extrahiert. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung mit Ethylacetat über Kieselgel wurde das Produkt als farbloser Feststoff (89 mg, 0.20 mmol, 64%) erhalten.

Schmp.: 178–179 °C (Lit.¹⁷³: 193 °C); IR (KBr): 3368 cm⁻¹ (NH), 1500 cm⁻¹; ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 2.00 (quint., *J* = 6.7 Hz, 2H, CH₂), 2.40 (s, 4H, 2 x CH₂), 2.45 – 2.50 (m, 2H, CH₂), 3.58 (t, *J* = 4.7 Hz, 4H, 2 x CH₂), 3.94 (s, 3H, OCH₃), 4.19 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H, CH₂), 7.21 (s, 1H, ArH), 7.45 (t, *J* = 9.1 Hz, 1H, ArH), 7.80 (ddd, *J* = 9.1, 4.3, 2.7 Hz, 1H, ArH), 7.83 (s, 1H, ArH), 8.13 (dd, *J* = 6.8, 2.7 Hz, 1H, ArH), 8.50 (s, 1H, ArH), 9.57 (s, 1H, NH); ¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 55.8 (CH₃), 25.8, 53.4 (2C), 54.9, 66.1 (2C), 67.1 (CH₂), 102.5, 107.2, 116.5 (d, ²*J*_{C,F} = 21.8 Hz, C-C-F), 122.3 (d, ³*J*_{C,F} = 6.7 Hz, C-C-C-F), 123.4, 152.6 (CH), 108.7, 118.7 (d, ²*J*_{C,F} = 18.3 Hz, C-C-F), 136.8 (d, ⁴*J*_{C,F} = 3.1 Hz, C-C-C-C-F), 146.9, 148.3, 153.1 (d, ¹*J*_{C,F} = 243.1 Hz, C-F), 154.4, 156.0 (C); C₂₂H₂₄ClFN₄O₃ (446.91); CHN: ber. C 59.13, H 5.41, N 12.54, gef. C 59.04, H 5.41, N 12.32; APCI-MS (ASAP, positiv): *m/z* (%) = 447 [M+H]⁺ (100); HPLC-1 (isokratisch): 99.1% bei 254 nm, 99.1% bei 280 nm, *t*_{M+S} = 3.78 min, *t*_M (DMSO) = 1.60 min (ACN/Puffer = 20:80); λ_{max}: 253, 343 nm.

Für einen der beiden Kohlenstoffkerne im Abstand von drei Bindungen zum Fluoratom wurde keine $^3J_{C,F}$ -Kopplung beobachtet.

2-{3-[(4-((3-Chlor-4-fluorphenyl)amino)-7-methoxychinazolin-6-yl)oxy]propyl}-5-methyl-1,2,5-thiadiazolidin-1,1-dioxid (7b)



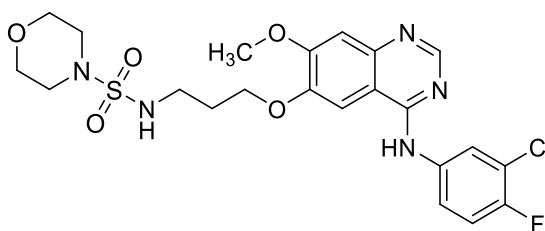
Nach AAV 1 aus 2-Methyl-1,2,5-thiadiazolidin-1,1-dioxid (**34a**, 283 mg, 2.08 mmol), Natriumhydrid (60%ige Suspension in Paraffinöl, 100 mg, 2.60 mmol) und *N*-(3-Chlor-4-fluorphenyl)-6-(3-chlorpropoxy)-7-methoxyquinazolin-4-amin (**48**, 60 mg, 0.15 mmol) in wasserfreiem *N,N*-Dimethylformamid (9 mL). Reaktionsdauer: 48 h. Das Produkt wurde via Säulenchromatographie mit Ethylacetat/Ethanol (12:1) als farbloser Feststoff (40 mg, 0.081 mmol, 54%) erhalten.

Schmp.: 202–204 °C; IR (KBr): 3429 cm^{-1} (NH), 1503 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ (ppm) = 2.12 (quint., J = 6.5 Hz, 2H, CH_2), 2.61 (s, 3H, CH_3), 3.17 (t, J = 7.0 Hz, 2H, CH_2), 3.24 – 3.29 (m, 2H, CH_2), 3.32 – 3.37 (m, 2H, CH_2 , Überlagerung mit H_2O -Signal), 3.95 (s, 3H, OCH_3), 4.23 (t, J = 6.1 Hz, 2H, CH_2), 7.22 (s, 1H, ArH), 7.46 (t, J = 9.1 Hz, 1H, ArH), 7.80 (ddd, J = 9.0, 4.3, 2.6 Hz, 1H, ArH), 7.83 (s, 1H, ArH), 8.12 (dd, J = 6.9, 2.67 Hz, 1H, ArH), 8.51 (s, 1H, ArH), 9.57 (s, 1H, NH); $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ (ppm) = 33.3, 55.9 (CH_3), 27.0, 44.5, 45.5, 47.0, 66.1 (CH_2), 102.6, 107.3, 116.5 (d, $^2J_{C,F}$ = 22.6 Hz, $\underline{\text{C}}\text{-C-F}$), 122.3 (d, $^3J_{C,F}$ = 6.7 Hz, $\underline{\text{C}}\text{-C-C-F}$), 123.4, 152.6 (CH), 108.7, 118.7 (d, $^2J_{C,F}$ = 17.5 Hz, $\underline{\text{C}}\text{-C-F}$), 136.7 (d, $^4J_{C,F}$ = 3.0 Hz, $\underline{\text{C}}\text{-C-C-C-F}$), 147.0, 148.1, 153.1 (d, $^1J_{C,F}$ = 243.5 Hz, $\underline{\text{C}}\text{-F}$), 154.5, 156.0 (C); $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{ClFN}_5\text{O}_4\text{S}$ (495.95); CHN: ber. C 50.86, H 4.67, N 14.12, gef. C 50.79, H 4.58, N 14.21; APCI-MS (ASAP, positiv): m/z (%) = 496 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100); HPLC-1 (isokratisch): 96.2% bei 254 nm, 96.6% bei 280 nm,

$t_{M+S} = 4.37$ min, t_M (DMSO) = 1.60 min (ACN/Puffer = 50:50); λ_{\max} : 222, 254, 343 nm.

Für einen der beiden Kohlenstoffkerne im Abstand von drei Bindungen zum Fluoratom wurde keine $^3J_{C,F}$ -Kopplung beobachtet.

N-(3-[(4-((3-Chlor-4-fluorphenyl)amino)-7-methoxychinazolin-6-yl)oxy]propyl)morpholin-4-sulfonamid (7c)



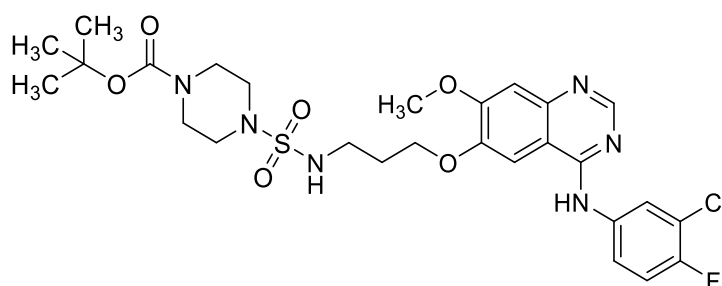
Nach AAV 2 aus Morpholin-4-sulfonamid (**34b**, 336 mg, 2.02 mmol), Natriumhydrid (60%ige Suspension in Paraffinöl, 99 mg, 2.6 mmol) und *N*-(3-Chlor-4-fluorphenyl)-6-(3-chlorpropoxy)-7-methoxyquinazolin-4-amin (**48**, 80 mg, 0.20 mmol) in wasserfreiem *N,N*-Dimethylformamid (15 mL). Reaktionsdauer: 10 h bei 100 °C. Die Reaktionen wurden unter Feuchtigkeitsausschluss durchgeführt. Das Produkt wurde säulenchromatographisch mit Dichlormethan/Methanol (40:1) und einer Umkristallisation aus Ethanol aufgereinigt und als farbloser Feststoff erhalten (42 mg, 0.080 mmol, 40%).

Schmp.: 222–223 °C; IR (KBr): 3388 cm^{-1} und 2958 cm^{-1} (NH), 1527 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 2.03 (quint., $J = 6.5$ Hz, 2H, CH_2), 2.99 – 3.04 (m, 4H, 2 x CH_2), 3.16 (dt, $J = 6.9, 5.7$ Hz, 2H, CH_2), 3.58 – 3.63 (m, 4H, 2 x CH_2), 3.95 (s, 3H, OCH_3), 4.22 (t, $J = 5.9$ Hz, 2H, CH_2), 7.22 (s, 1H, ArH), 7.41 (t, $J = 5.7$ Hz, 1H, NH), 7.46 (t, $J = 9.1$ Hz, 1H, ArH), 7.79 (ddd, $J = 9.0, 4.3, 2.6$ Hz, 1H, ArH), 7.83 (s, 1H, ArH), 8.12 (dd, $J = 6.9, 2.7$ Hz, 1H, ArH), 8.52 (s, 1H, ArH), 9.60 (s, 1H, NH); $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 55.9 (CH_3), 28.8, 39.4 (Überlagerung mit dem DMSO-Signal), 45.7 (2C), 65.4 (2C), 65.9 (CH_2), 102.5, 107.1, 116.5 (d, $^2J_{C,F} = 23.0$ Hz, $\underline{\text{C-C-F}}$), 122.3 (d, $^3J_{C,F} = 6.9$ Hz, $\underline{\text{C-C-C-F}}$), 123.5, 152.5 (CH), 108.6, 118.8 (d, $^2J_{C,F} = 19.1$ Hz, $\underline{\text{C-C-F}}$), 136.6 (d, $^4J_{C,F} = 2.6$ Hz,

$\underline{\text{C}}\text{-C-C-C-F}$), 146.9, 148.2, 153.4 (d, $^1J_{\text{C,F}} = 245.5$ Hz, $\underline{\text{C}}\text{-F}$), 154.5, 156.0 (C); $\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{ClFN}_5\text{O}_5\text{S}$ (525.98); CHN: ber. C 50.24, H 4.79, N 13.32, gef. C 50.49, H 4.70, N 13.00; APCI-MS (ASAP, positiv): m/z (%) = 526 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100); HPLC-1 (isokratisch): 95.3% bei 254 nm, 95.3% bei 280 nm, $t_{\text{M+S}} = 4.14$ min, t_{M} (DMSO) = 1.60 min (ACN/Puffer = 40:60); λ_{max} : 253, 344 nm.

Für einen der beiden Kohlenstoffkerne im Abstand von drei Bindungen zum Fluoratom wurde keine $^3J_{\text{C,F}}$ -Kopplung beobachtet.

tert-Butyl-4-{*N*-[3-((4-((3-chlor-4-fluorphenyl)amino)-7-methoxychinazolin-6-yl)oxy)propyl]-sulfamoyl}piperazin-1-carboxylat (**7d**)



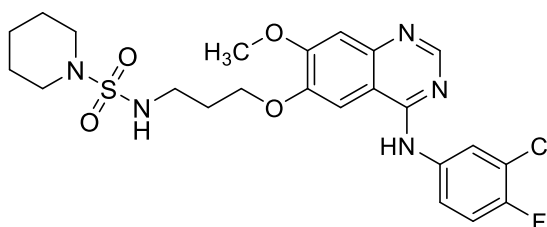
Nach AAV 2 aus *tert*-Butyl-4-sulfamoylpiperazin-1-carboxylat (**34c**, 470 mg, 1.77 mmol), Natriumhydrid (60%ige Suspension in Paraffinöl, 81 mg, 2.1 mmol) und *N*-(3-Chlor-4-fluorphenyl)-6-(3-chlorpropoxy)-7-methoxychinazolin-4-amin (**48**, 70 mg, 0.18 mmol) in wasserfreiem *N,N*-Dimethylformamid (15 mL). Reaktionsdauer: 15 h bei 100 °C. Die Reaktionen wurden unter Feuchtigkeitsausschluss durchgeführt. Das Produkt wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat/Ethanol (10:1) und einer Umkristallisation aus Ethanol aufgereinigt und als farbloser Feststoff erhalten (22 mg, 0.035 mmol, 20%).

Schmp.: 190–191 °C; IR (KBr): 3397 cm^{-1} (NH), 1704 cm^{-1} (C=O), 1504 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 1.39 (s, 9H, *tert*-Butyl), 2.03 (quint., $J = 6.3$ Hz, 2H, CH_2), 3.02 (t, $J = 5.1$ Hz, 4H, 2 x CH_2), 3.16 („q“, $J = 6.6$ Hz, 2H, CH_2), 3.95 (s, 3H, OCH_3), 4.23 (t, $J = 5.9$ Hz, 2H, CH_2), 7.23 (s, 1H, ArH), 7.41 (t, $J = 5.7$ Hz, 1H, NH), 7.47 (t, $J = 9.1$ Hz, 1H, ArH), 7.81 (ddd, $J = 9.1, 4.4, 2.7$ Hz, 1H, ArH), 7.84 (s, 1H, ArH), 8.14 (dd, $J = 6.8, 2.6$ Hz, 1H, ArH), 8.52 (s, 1H, ArH), 9.57

(s, 1H, NH); ^{13}C -NMR (126 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 27.9 (3C), 55.8 (CH_3), 28.7, 39.4 (Überlagerung mit dem DMSO-Signal), 45.3 (2C), 65.9 (CH_2), 102.5, 107.3, 116.5 (d, $^2J_{\text{C,F}} = 21.3$ Hz, $\underline{\text{C}}\text{-C-F}$), 122.3 (d, $^3J_{\text{C,F}} = 6.9$ Hz, $\underline{\text{C}}\text{-C-C-F}$), 123.4, 152.6 (CH), 79.2, 108.7, 118.7 (d, $^2J_{\text{C,F}} = 17.9$ Hz, $\underline{\text{C}}\text{-C-F}$), 136.7 (d, $^4J_{\text{C,F}} = 3.3$ Hz, $\underline{\text{C}}\text{-C-C-C-F}$), 146.9, 148.1, 153.1 (d, $^1J_{\text{C,F}} = 243.7$ Hz, $\underline{\text{C}}\text{-F}$), 153.6, 154.4, 156.0 (C); $\text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{ClFN}_6\text{O}_6\text{S}$ (625.11); CHN: ber. C 51.88, H 5.48, N 13.44, gef. C 51.94, H 5.35, N 13.47; APCI-MS (ASAP, positiv): m/z (%) = 625 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (25); HPLC-1 (isokratisch): 98.4% bei 254 nm, 98.6% bei 280 nm, $t_{\text{M+S}} = 6.14$ min, t_{M} (DMSO) = 1.60 min (ACN/Puffer = 50:50); λ_{max} : 222, 253, 344 nm.

Die beiden in den ^1H - bzw. ^{13}C -NMR-Spektren fehlenden Methylengruppen (die Kohlenstoff- und Wasserstoffatome) konnten mittels 2D-NMR-Spektroskopie (HSQC) ermittelt werden. Für einen der beiden Kohlenstoffkerne im Abstand von drei Bindungen zum Fluoratom wurde keine $^3J_{\text{C,F}}$ -Kopplung beobachtet.

N-(3-[(4-((3-Chlor-4-fluorphenyl)amino)-7-methoxychinazolin-6-yl)oxy]propyl)-piperidin-1-sulfonamid (7e)



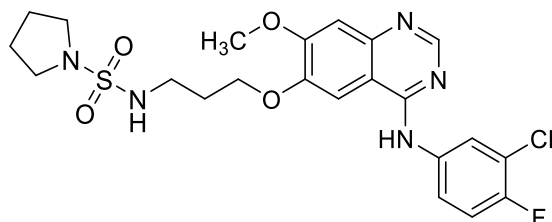
Nach AAV 2 aus Piperidin-1-sulfonamid (**34d**, 331 mg, 2.01 mmol), Natriumhydrid (60%ige Suspension in Paraffinöl, 100 mg, 2.60 mmol) und *N*-(3-Chlor-4-fluorphenyl)-6-(3-chlorpropoxy)-7-methoxychinazolin-4-amin (**48**, 80 mg, 0.20 mmol) in wasserfreiem *N,N*-Dimethylformamid (15 mL). Reaktionsdauer: 9 h bei 100 °C. Die Reaktionen wurden unter Feuchtigkeitsausschluss durchgeführt. Das Produkt wurde säulenchromatographisch mit Dichlormethan/Methanol (40:1) und einer Umkristallisation aus Ethanol aufgereinigt und als farbloser Feststoff erhalten (66 mg, 0.13 mmol, 62%).

Schmp.: 225–228 °C; IR (KBr): 3384 cm^{-1} (NH), 1502 cm^{-1} ; ^1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 1.38 – 1.45 (m, 2H, CH_2), 1.48 – 1.55 (m, 4H, 2 x CH_2), 2.03

(quint., $J = 6.5$ Hz, 2H, CH₂), 3.01 – 3.07 (m, 4H, 2 x CH₂), 3.13 („q“, $J = 6.7$ Hz, 2H, CH₂), 3.97 (s, 3H, OCH₃), 4.24 (t, $J = 5.9$ Hz, 2H, CH₂), 7.23 (t, $J = 5.8$ Hz, 1H, NH), 7.24 (s, 1H, ArH), 7.48 (t, $J = 9.1$ Hz, 1H, ArH), 7.82 (ddd, $J = 9.1, 4.3, 2.7$ Hz, 1H, ArH), 7.85 (s, 1H, ArH), 8.14 (dd, $J = 6.8, 2.6$ Hz, 1H, ArH), 8.53 (s, 1H, ArH), 9.60 (s, 1H, NH); ¹³C-NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 55.8 (CH₃), 23.2, 24.8 (2C), 28.7, 39.4 (Überlagerung mit DMSO-Signal), 46.2 (2C), 65.9 (CH₂), 102.5, 107.2, 116.5 (d, $^2J_{C,F} = 21.8$ Hz, C-C-F), 122.3 (d, $^3J_{C,F} = 7.4$ Hz, C-C-C-F), 123.4, 152.6 (CH), 108.7, 118.8 (d, $^2J_{C,F} = 18.1$ Hz, C-C-F), 136.7 (d, $^4J_{C,F} = 3.1$ Hz, C-C-C-C-F), 146.9, 148.1, 153.1 (d, $^1J_{C,F} = 243.0$ Hz, C-F), 154.4, 156.0 (C); C₂₃H₂₇ClFN₅O₄S (524.01); CHN: ber. C 52.72, H 5.19, N 13.37, gef. C 52.39, H 5.04, N 13.43; APCI-MS (ASAP, positiv): m/z (%) = 524 [M+H]⁺ (100); HPLC-1 (isokratisch): 97.6% bei 254 nm, 97.5% bei 280 nm, $t_{M+S} = 4.56$ min, t_M (DMSO) = 1.60 min (ACN/Puffer = 50:50); λ_{max} : 222, 253, 344 nm.

Für einen der beiden Kohlenstoffkerne im Abstand von drei Bindungen zum Fluoratom wurde keine $^3J_{C,F}$ -Kopplung beobachtet.

N-{3-[(4-((3-Chlor-4-fluorphenyl)amino)-7-methoxychinazolin-6-yl)oxy]propyl}-pyrrolidin-1-sulfonamid (7f)

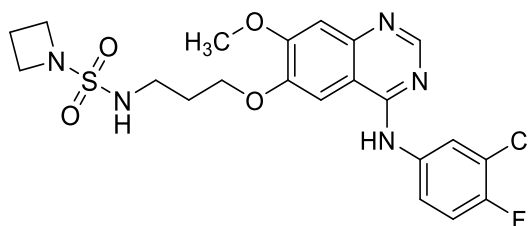


Nach AAV 2 aus Pyrrolidin-1-sulfonamid (**34e**, 298 mg, 1.98 mmol), Natriumhydrid (60%ige Suspension in Paraffinöl, 99 mg, 2.6 mmol) und *N*-(3-Chlor-4-fluorphenyl)-6-(3-chlorpropoxy)-7-methoxychinazolin-4-amin (**48**, 80 mg, 0.20 mmol) in wasserfreiem *N,N*-Dimethylformamid (12 mL). Reaktionsdauer: 3 h bei 100 °C. Das Produkt wurde säulenchromatographisch mit Dichlormethan/Methanol (40:1) und einer Umkristallisation aus Aceton aufgereinigt und als farbloser Feststoff isoliert (27 mg, 0.053 mmol, 26%).

Schmp.: 209–210 °C; IR (KBr): 3434 cm^{-1} (NH), 1502 cm^{-1} ; ^1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 1.75 – 1.82 (m, 4H, 2 x CH_2), 2.02 (quint., J = 6.5 Hz, 2H, CH_2), 3.11 – 3.17 (m, 6H, 3 x CH_2), 3.95 (s, 3H, OCH_3), 4.22 (t, J = 5.9 Hz, 2H, CH_2), 7.16 (t, J = 5.8 Hz, 1H, NH), 7.22 (s, 1H, ArH), 7.46 (t, J = 9.1 Hz, 1H, ArH), 7.80 (ddd, J = 9.0, 4.3, 2.6 Hz, 1H, ArH), 7.83 (s, 1H, ArH), 8.12 (dd, J = 6.8, 2.6 Hz, 1H, ArH), 8.51 (s, 1H, ArH), 9.57 (s, 1H, NH); ^{13}C -NMR (151 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 55.8 (CH_3), 24.9 (2C), 28.8, 39.4 (Überlagerung mit dem DMSO-Signal), 47.5 (2C), 66.0 (CH_2), 102.5, 107.3, 116.5 (d, $^2J_{\text{C},\text{F}}$ = 22.4 Hz, $\underline{\text{C}}\text{-C-F}$), 122.3 (d, $^3J_{\text{C},\text{F}}$ = 6.1 Hz, $\underline{\text{C}}\text{-C-C-F}$), 123.4, 152.3 (CH), 108.7, 118.7 (d, $^2J_{\text{C},\text{F}}$ = 19.2 Hz, $\underline{\text{C}}\text{-C-F}$), 136.7 (d, $^4J_{\text{C},\text{F}}$ = 3.0 Hz, $\underline{\text{C}}\text{-C-C-C-F}$), 146.9, 148.1, 153.1 (d, $^1J_{\text{C},\text{F}}$ = 243.1 Hz, $\underline{\text{C-F}}$), 154.4, 156.0 (C); $\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{ClFN}_5\text{O}_4\text{S}$ (509.98); CHN: ber. C 51.81, H 4.94, N 13.73, gef. C 51.59, H 4.91, N 13.71; APCI-MS (ASAP, positiv): m/z (%) = 510 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100); HPLC-1 (isokratisch): 95.1% bei 254 nm, 95.4% bei 280 nm, $t_{\text{M}+\text{S}}$ = 3.57 min, t_{M} (DMSO) = 1.60 min (ACN/Puffer = 50:50); λ_{max} : 253, 344 nm.

Für einen der beiden Kohlenstoffkerne im Abstand von drei Bindungen zum Fluoratom wurde keine $^3J_{\text{C},\text{F}}$ -Kopplung beobachtet.

N-{3-[(4-((3-Chlor-4-fluorphenyl)amino)-7-methoxychinazolin-6-yl)oxy]propyl}-azetidin-1-sulfonamid (7g)

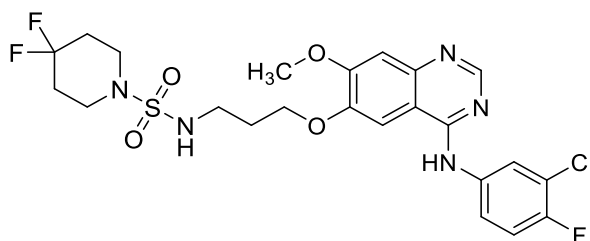


Nach AAV 2 aus Azetidin-1-sulfonamid (**34f**, 179 mg, 1.32 mmol), Natriumhydrid (60%ige Suspension in Paraffinöl, 64 mg, 1.7 mmol) und *N*-(3-Chlor-4-fluorphenyl)-6-(3-chlorpropoxy)-7-methoxychinazolin-4-amin (**48**, 70 mg, 0.18 mmol) in wasserfreiem *N,N*-Dimethylformamid (12 mL). Reaktionsdauer: 2 h bei 100 °C. Das Produkt wurde säulenchromatographisch mit Dichlormethan/Methanol (40:1) und einer Umkristallisation aus Aceton aufgereinigt und als farbloser Feststoff erhalten (33 mg, 0.067 mmol, 38%).

Schmp.: 220–222 °C; IR (KBr): 3377 cm⁻¹ (NH), 1502 cm⁻¹; ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 1.99 – 2.11 (m, 4H, 2 x CH₂), 3.18 (dt, *J* = 6.8, 5.7 Hz, 2H, CH₂), 3.70 (t, *J* = 7.8 Hz, 4H, 2 x CH₂), 3.95 (s, 3H, OCH₃), 4.22 (t, *J* = 5.9 Hz, 2H, CH₂), 7.22 (s, 1H, ArH), 7.25 (t, *J* = 5.8 Hz, 1H, NH), 7.46 (t, *J* = 9.1 Hz, 1H, ArH), 7.79 (ddd, *J* = 9.0, 4.3, 2.6 Hz, 1H, ArH), 7.83 (s, 1H, ArH), 8.12 (dd, *J* = 6.8, 2.6 Hz, 1H, ArH), 8.51 (s, 1H, ArH), 9.57 (s, 1H, NH); ¹³C-NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 55.8 (CH₃), 14.4, 29.0, 39.4 (Überlagerung mit dem DMSO-Signal), 49.7 (2C), 66.0 (CH₂), 102.5, 107.3, 116.5 (d, ²*J*_{C,F} = 22.8 Hz, C-C-F), 122.3 (d, ³*J*_{C,F} = 6.2 Hz, C-C-C-F), 123.4, 152.6 (CH), 108.7, 118.7 (d, ²*J*_{C,F} = 19.1 Hz, C-C-F), 136.7 (d, ⁴*J*_{C,F} = 3.0 Hz, C-C-C-C-F), 146.9, 148.2, 153.1 (d, ¹*J*_{C,F} = 242.0 Hz, C-F), 153.9, 156.0 (C); C₂₁H₂₃ClFN₅O₄S (495.95); CHN: ber. C 50.86, H 4.67, N 14.12, gef. C 50.92, H 4.53, N 14.18; APCI-MS (ASAP, positiv): *m/z* (%) = 496 [M+H]⁺ (100); HPLC-1 (isokratisch): 98.9% bei 254 nm, 98.8% bei 280 nm, *t*_{M+S} = 2.90 min, *t*_M (DMSO) = 1.60 min (ACN/Puffer = 50:50); λ_{max}: 253, 344 nm.

Für einen der beiden Kohlenstoffkerne im Abstand von drei Bindungen zum Fluoratom wurde keine ³*J*_{C,F}-Kopplung beobachtet.

N-{3-[(4-((3-Chlor-4-fluorphenyl)amino)-7-methoxychinazolin-6-yl)oxy]propyl}-4,4-difluorpiperidin-1-sulfonamid (7h)



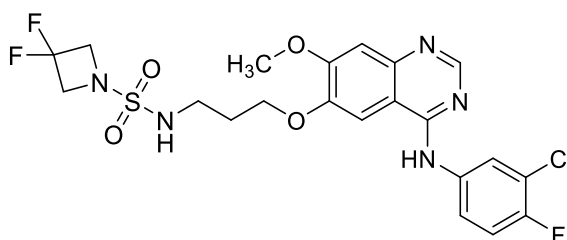
Nach AAV 2 aus 4,4-Difluorpiperidin-1-sulfonamid (**34g**, 404 mg, 2.02 mmol), Natriumhydrid (60%ige Suspension in Paraffinöl, 93 mg, 2.4 mmol) und *N*-(3-Chlor-4-fluor-phenyl)-6-(3-chlorpropoxy)-7-methoxychinazolin-4-amin (**48**, 100 mg, 0.25 mmol) in wasserfreiem *N,N*-Dimethylformamid (9 mL). Reaktionsdauer: 5 h bei 100 °C. Die Reaktionen wurden unter

Feuchtigkeitsausschluss durchgeführt. Dem öligen Rückstand wurde Aceton hinzugeben. Das Produkt fiel als farbloser Feststoff aus (25 mg, 0.045 mmol, 18%).

Schmp.: 199–202 °C; IR (KBr): 3389 cm⁻¹ (NH), 1505 cm⁻¹; ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 2.02 – 2.08 (m, 6H, 3 x CH₂), 3.14 („q“, *J* = 6.7 Hz, 2H, CH₂), 3.20 – 3.25 (m, 4H, 2 x CH₂), 3.94 (s, 3H, CH₃), 4.22 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H, CH₂), 7.22 (s, 1H, ArH), 7.43 – 7.50 (m, 2H, ArH und NH), 7.80 (ddd, *J* = 9.2, 4.5, 2.7 Hz, 1H, ArH), 7.83 (s, 1H, ArH), 8.12 (dd, *J* = 6.8, 2.6 Hz, 1H, ArH), 8.51 (s, 1H, ArH), 9.56 (s, 1H, NH); ¹³C-NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 55.8 (CH₃), 28.7, 32.7 (t, ²*J*_{C,F} = 22.2 Hz, C-C-F₂, 2C), 39.4 (Überlagerung mit dem DMSO-Signal), 42.8 (t, ³*J*_{C,F} = 5.4 Hz, C-C-C-F₂, 2C), 65.9 (CH₂), 102.5, 107.3, 116.5 (d, ²*J*_{C,F} = 22.9 Hz, C-C-F), 122.3 (d, ³*J*_{C,F} = 7.4 Hz, C-C-C-F), 123.6, 152.6 (CH), 108.7, 118.7 (d, ²*J*_{C,F} = 18.1 Hz, C-C-F), 122.0 (t, ¹*J*_{C,F} = 241.5 Hz, C-F₂), 136.7 (d, ⁴*J*_{C,F} = 3.2 Hz, C-C-C-C-F), 146.9, 148.1, 153.1 (d, ¹*J*_{C,F} = 243.4 Hz, C-F), 154.4, 156.0 (C); C₂₃H₂₅ClF₃N₅O₄S (559.99); HRMS (EI): *m/z* [M]⁺⁺ ber. 559.12624, gef. 559.12476; APCI-MS (ASAP, positiv): *m/z* (%) = 561 [M+H]⁺ (44); HPLC-1 (isokratisch): 96.6% bei 254 nm und 96.5% bei 280 nm, *t*_{M+S} = 3.78 min, *t*_M (DMSO) = 1.60 min (ACN/Puffer = 50:50); λ_{max}: 253, 344 nm.

Für einen der beiden Kohlenstoffkerne im Abstand von drei Bindungen zum Fluoratom wurde keine ³*J*_{C,F}-Kopplung beobachtet.

N-(3-[(4-((3-Chlor-4-fluorphenyl)amino)-7-methoxychinazolin-6-yl)oxy]propyl)-3,3-difluorazetidin-1-sulfonamid (7i)



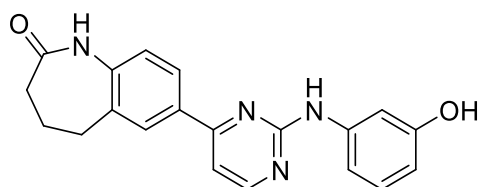
Nach AAV 2 aus 4,4-Difluorazetidin-1-sulfonamid (**34h**, 233 mg, 1.35 mmol), Natriumhydrid (60%ige Suspension in Paraffinöl, 61 mg, 1.6 mmol) und *N*-(3-Chlor-4-fluor-phenyl)-6-(3-chlorpropoxy)-7-methoxychinazolin-4-amin (**48**,

100 mg, 0.25 mmol) in wasserfreiem *N,N*-Dimethylformamid (8 mL). Reaktionsdauer: 15 h bei 100 °C. Dem öligen Rückstand wurde Aceton hinzugeben. Das Produkt fiel als farbloser Feststoff aus (15 mg, 0.028 mmol, 11%).

Schmp.: 244–246 °C; IR (KBr): 3388 cm⁻¹ (NH), 1501 cm⁻¹; ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 2.04 (quint., *J* = 6.6 Hz, 2H, CH₂), 3.23 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H, CH₂), 3.95 (s, 3H, OCH₃), 4.18 – 4.25 (m, 6H, 3 x CH₂), 7.22 (s, 1H, ArH), 7.46 (t, *J* = 9.1 Hz, 1H, ArH), 7.74 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H, NH), 7.80 (ddd, *J* = 9.0, 4.3, 2.6 Hz, 1H, ArH), 7.83 (s, 1H, ArH), 8.12 (dd, *J* = 7.0, 2.6 Hz, 1H, ArH), 8.51 (s, 1H, NH), 9.56 (s, 1H, NH); ¹³C-NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 55.8 (CH₃), 28.9, 39.4 (Signal unter dem DMSO-Peak), 60.8 (t, ²*J*_{C,F} = 26.3 Hz, C-C-F₂, 2C), 65.8 (CH₂), 102.5, 107.3, 116.6 (d, ²*J*_{C,F} = 22.2 Hz, C-C-F), 122.2 (d, ³*J*_{C,F} = 6.5 Hz, C-C-C-F), 123.4, 152.3 (CH), 108.7, 114.6 (d, ¹*J*_{C,F} = 273.2 Hz, C-F), 118.7 (d, ²*J*_{C,F} = 19.9 Hz, C-C-F), 136.7 (d, ⁴*J*_{C,F} = 3.1 Hz, C-C-C-C-F), 146.9, 148.1, 153.5 (d, ¹*J*_{C,F} = 271.5 Hz, C-F), 153.9, 155.9 (C); C₂₁H₂₁ClF₃N₅O₄S (531.94); HRMS (ESI): *m/z* (C₂₁H₂₂ClF₃N₅O₄S, Monokation) ber. 532.10276, gef. 532.10308; APCI-MS (ASAP, positiv): *m/z* (%) = 532.1 [M+H]⁺ (100), 360.1 [M-171]⁺ (12); HPLC-1 (isokratisch): 96.7% bei 254 nm und 96.7% bei 280 nm, *t*_{M+S} = 3.31 min, *t*_M (DMSO) = 1.60 min (ACN/Puffer = 50:50); λ_{max}: 253, 343 nm.

Für einen der beiden Kohlenstoffkerne im Abstand von drei Bindungen zum Fluoratom wurde keine ³*J*_{C,F}-Kopplung beobachtet.

7-[2-((3-Hydroxyphenyl)amino)pyrimidin-4-yl]-1,3,4,5-tetrahydro-2*H*-1-benzazepin-2-on (30a)



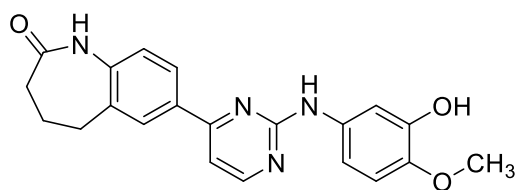
Nach AAV 3, Methode B, wurden 7-[3-(Dimethylamino)acryloyl]-1,3,4,5-tetrahydro-2*H*-1-benzazepin-2-on (**38**, 200 mg, 0.774 mmol), *N*-(3-Hydroxyphenyl)guanidiniumnitrat (165 mg, 0.770 mmol) und

Natriumhydroxid (46 mg, 1.2 mmol) in 2-Propanol (4 mL) suspendiert. Anschließend wurde für 30 min bei 140 °C die Mikrowellensynthese durchgeführt (150 Watt, 50 psi). Es wurde ein beigefarbenes Pulver erhalten (149 mg, 0.43 mmol, 56%).

Schmp.: 235–237 °C (Lit.¹³²: 243 °C); IR (KBr): 3271 cm⁻¹ (NH), 1651 cm⁻¹ (C=O); ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 2.11 – 2.26 (m, 4H, 2 x CH₂), 2.79 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H, CH₂), 6.38 (ddd, *J* = 8.0, 2.4, 1.0 Hz, 1H, ArH), 7.03 – 7.14 (m, 2H, ArH), 7.18 – 7.25 (m, 1H, ArH), 7.37 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H, ArH), 7.41 (t, *J* = 2.2 Hz, 1H, ArH), 8.05 (dd, *J* = 8.2, 2.1 Hz, 1H, ArH), 8.09 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, ArH), 8.51 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H, ArH), 9.26 (s, 1H, OH), 9.52 (s, 1H, NH), 9.77 (s, 1H, NH); ¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 27.7, 30.2, 33.1 (CH₂), 106.0, 107.3, 108.5, 109.8, 121.6, 125.9, 128.4, 129.0, 158.6 (CH), 132.5, 133.6, 141.4, 141.6, 157.4, 160.1, 163.0, 173.2 (C); C₂₀H₁₈N₄O₂ (346.39); APCI-MS (ASAP, positiv): *m/z* (%) = 347 [M+H]⁺ (100).

Die ¹H-NMR-spektroskopischen Daten entsprechen der Literatur.¹³²

7-[2-((3-Hydroxy-4-methoxyphenyl)amino)pyrimidin-4-yl]-1,3,4,5-tetrahydro-2*H*-1-benzazepin-2-on (30b)

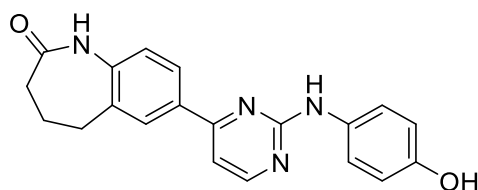


Nach AAV 3, Methode A, wurden 7-[3-(Dimethylamino)acryloyl]-1,3,4,5-tetrahydro-2*H*-1-benzazepin-2-on (**38**, 261 mg, 1.01 mmol), *N*-(3-Hydroxy-4-methoxyphenyl)guanidiniumnitrat (247 g, 1.01 mmol) und Natriumhydroxid (40 mg, 1.0 mmol) in wasserfreiem *N,N*-Dimethylformamid (4 mL) suspendiert. Anschließend wurde für 1 h bei 175 °C die Mikrowellensynthese durchgeführt (150 Watt, 290 psi). Es wurde ein beigefarbenes Pulver erhalten (175 mg, 0.465 mmol, 46%).

Schmp.: 266–268 °C (Lit.¹³²: 269 °C); IR (KBr): 3544 cm⁻¹ (NH), 1670 cm⁻¹ (C=O); ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 2.12 – 2.26 (m, 4H, 2 x CH₂), 2.79 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H, CH₂), 3.74 (s, 3H, CH₃), 6.86 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, ArH), 7.10 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, ArH), 7.17 (dd, *J* = 8.7, 2.6 Hz, 1H, ArH), 7.31 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H, ArH), 7.36 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H, ArH), 8.03 (dd, *J* = 8.2, 2.1 Hz, 1H, ArH), 8.07 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, ArH), 8.46 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H, ArH), 8.90 (s, 1H, OH), 9.34 (s, 1H, NH), 9.76 (s, 1H, NH); ¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 56.0 (CH₃), 27.7, 30.2, 33.1 (CH₂), 106.8, 107.8, 109.8, 112.6, 121.5, 125.8, 128.3, 158.6 (CH), 132.7, 133.6, 134.3, 141.4, 142.6, 146.3, 160.1, 162.9, 173.3 (C); C₂₁H₂₀N₄O₃ (376.42); APCI-MS (ASAP, positiv): *m/z* (%) = 377 [M+H]⁺ (100).

Die ¹H-NMR-spektroskopischen Daten entsprechen der Literatur.¹³²

7-[2-((4-Hydroxyphenyl)amino)pyrimidin-4-yl]-1,3,4,5-tetrahydro-2*H*-1-benzazepin-2-on (30e)



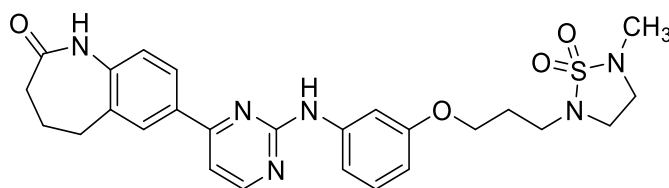
Nach AAV 3, Methode A, wurden 7-[3-(Dimethylamino)acryloyl]-1,3,4,5-tetrahydro-2*H*-1-benzazepin-2-on (**38**, 200 mg, 0.744 mmol), *N*-(4-Hydroxyphenyl)guanidiniumnitrat (199 mg, 0.929 mmol) und Natriumhydroxid (37 mg, 0.93 mmol) in wasserfreiem *N,N*-Dimethylformamid (8 mL) suspendiert. Anschließend wurde für 1 h bei 175 °C die Mikrowellensynthese durchgeführt (150 Watt, 290 psi). Es wurde ein ockerfarbenes Pulver erhalten (100 mg, 0.288 mmol, 37%).

Schmp.: 286–287 °C (Lit.¹³²: 291 °C); IR (KBr): 3253 cm⁻¹ (NH), 1652 cm⁻¹ (C=O); ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 2.11 – 2.25 (m, 4H, 2 x CH₂), 2.78 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H, CH₂), 6.69 – 6.76 (m, 2H, ArH), 7.09 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, ArH), 7.28 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H, ArH), 7.52 – 7.59 (m, 2H, ArH), 8.00 (dd, *J* = 8.2, 2.1 Hz, 1H, ArH), 8.05 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, ArH), 8.44 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H, ArH), 9.03 (s, 1H, OH),

9.29 (s, 1H, NH), 9.75 (s, 1H, NH); ^{13}C -NMR (126 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ (ppm) = 27.7, 30.2, 33.1 (CH_2), 106.6, 114.8 (2C), 121.0 (2C), 121.5, 125.7, 128.2, 158.6 (CH), 132.1, 132.7, 133.6, 141.3, 152.2, 160.3, 162.9, 173.2 (C); $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_2$ (346.39); APCI-MS (ASAP, positiv): m/z (%) = 347 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100).

Die ^1H -NMR-spektroskopischen Daten entsprechen der Literatur.¹³²

7-{2-[(3-(3-(5-Methyl-1,1-dioxo-1,2,5-thiadiazolidin-2-yl)propoxy)phenyl)amino]pyrimidin-4-yl}-1,3,4,5-tetrahydro-2H-1-benzazepin-2-on (31a)

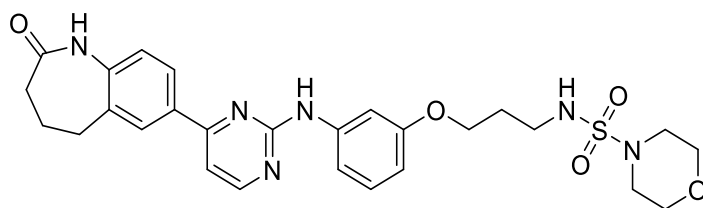


Nach AAV 1 aus 2-Methyl-1,2,5-thiadiazolidin-1,1-dioxid (**34a**, 200 mg, 1.47 mmol), Natriumhydrid (60%ige Suspension in Paraffinöl, 72 mg, 1.8 mmol) und 7-{2-[(3-(3-Brompropoxy)phenyl)amino]pyrimidin-4-yl}-1,3,4,5-tetrahydro-2H-1-benzazepin-2-on (**44a**, 130 mg, 0.278 mmol) in wasserfreiem *N,N*-Dimethylformamid (9 mL). Reaktionsdauer: 48 h. Das Produkt wurde via Säulenchromatographie mit Ethylacetat/Dichlormethan (5:1) aufgereinigt und als farbloser Feststoff erhalten (18 mg, 0.034 mmol, 12%).

Schmp.: 183–185 °C; IR (KBr): 3266 cm^{-1} (NH), 1660 cm^{-1} (C=O), 1577 cm^{-1} ; ^1H -NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ (ppm) = 1.97 – 2.05 (m, 2H, CH_2), 2.13 – 2.20 (m, 2H, CH_2), 2.20 – 2.25 (m, 2H, CH_2), 2.60 (s, 3H, CH_3), 2.79 (t, J = 7.0 Hz, 2H, CH_2), 3.12 (t, J = 7.1 Hz, 2H, CH_2), 3.22 – 3.28 (m, 2H, CH_2), 3.29 – 3.33 (m, 2H, CH_2), 4.05 (t, J = 6.1 Hz, 2H, CH_2), 6.55 (dd, J = 8.1, 2.5 Hz, 1H, ArH), 7.11 (d, J = 8.3 Hz, 1H, ArH), 7.20 (t, J = 8.1 Hz, 1H, ArH), 7.34 (dd, J = 8.2, 2.0 Hz, 1H, ArH), 7.40 (d, J = 5.2 Hz, 1H, ArH), 7.67 (t, J = 2.3 Hz, 1H, ArH), 8.04 (dd, J = 8.2, 2.1 Hz, 1H, ArH), 8.10 (d, J = 2.1 Hz, 1H, ArH), 8.54 (d, J = 5.2 Hz, 1H, ArH), 9.65 (s, 1H, NH), 9.77 (s, 1H, NH); ^{13}C -NMR (151 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ (ppm) = 33.4 (CH_3), 27.1, 27.7, 30.2, 33.1, 44.4, 45.4, 47.0, 64.5 (CH_2), 105.1, 107.0, 107.6, 111.3, 121.6, 125.9, 128.3, 129.2, 158.7 (CH), 132.5, 133.7, 141.5, 141.8, 158.8,

160.0, 163.0, 173.2 (C); C₂₆H₃₀N₆O₄S (522.62); HRMS (EI): m/z [M]⁺⁺ ber. 522.20438, gef. 522.20448; APCI-MS (ASAP, positiv): m/z (%) = 523 [M+H]⁺ (14); HPLC-2 (isokratisch): 99.8% bei 254 nm und 99.8% bei 280 nm, t_{M+S} = 8.29 min, t_M (DMSO) = 1.21 min (ACN/Wasser = 50:50); HPLC-2 (Gradient): 98.8% bei 254 nm, t_{M+S} = 10.3 min, t_M (DMSO) = 1.17 min; λ_{max}: 212, 281 nm.

N-{3-[3-((4-(2-Oxo-2,3,4,5-tetrahydro-2H-1-benzazepin-7-yl)pyrimidin-2-yl)amino)phenoxy]propyl)morpholin-4-sulfonamid (31b)}

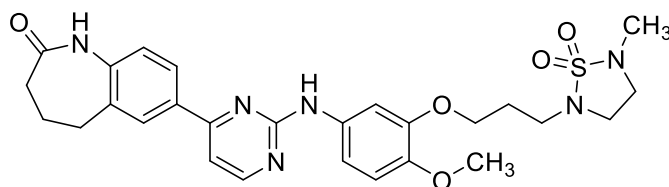


Nach AAV 4 wurde zu einer Lösung aus 7-{2-[(3-(3-Chlorpropoxy)phenyl)amino]-pyrimidin-4-yl}-1,3,4,5-tetrahydro-2H-1-benzazepin-2-on (**45b**, 120 mg, 0.284 mmol) in wasserfreiem *N,N*-Dimethylformamid (9 mL), Kaliumcarbonat (196 mg, 1.42 mmol), Morpholin-4-sulfonamid (**34b**, 236 mg, 1.42 mmol) und Natriumiodid (26 mg, 0.17 mmol) hinzugegeben. Die gelbliche Suspension wurde für 51 h bei 80 °C erhitzt. Durch eine präparative HPLC mit Acetonitril/Wasser (40:60) wurde das Produkt als farbloses Pulver (22 mg, 0.040 mmol, 14%) erhalten.

Schmp.: 221°C (Erweichen und Verfärbung beginnend bei 102 °C); IR (KBr): 3429 cm⁻¹ (NH), 1667 cm⁻¹ (C=O), 1578 cm⁻¹; ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 1.92 (quint., *J* = 6.8 Hz, 2H, CH₂), 2.14 – 2.25 (m, 4H, 2 x CH₂), 2.79 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H, CH₂), 2.99 (t, *J* = 4.8 Hz, 4H, 2 x CH₂), 3.10 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H, CH₂), 3.59 (t, *J* = 4.8 Hz, 4H, 2 x CH₂), 4.03 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H, CH₂), 6.54 (dd, *J* = 8.1, 2.5 Hz, 1H, ArH), 7.11 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, ArH), 7.20 (t, *J* = 8.1 Hz, 1H, ArH), 7.33 – 7.36 (m, 1H, ArH), 7.38 – 7.43 (m, 2H, ArH und NH), 7.68 (t, *J* = 2.3 Hz, 1H, ArH), 8.04 (dd, *J* = 8.3, 2.1 Hz, 1H, ArH), 8.11 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, ArH), 8.54 (d, *J* = 5.3 Hz, 1H, ArH), 9.65 (s, 1H, NH), 9.77 (s, 1H, NH); ¹³C-NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 27.7, 29.1, 30.2, 33.1, 39.4 (Überlagerung mit

dem DMSO-Signal), 45.7 (2C), 64.3, 65.4 (2C) (CH₂), 105.1, 107.0, 107.6, 111.2, 121.6, 125.9, 128.3, 129.1, 158.7 (CH), 132.5, 133.7, 141.5, 141.8, 158.8, 160.0, 163.0, 173.2 (C); C₂₇H₃₂N₆O₅S (552.65); HRMS (ESI): m/z (C₂₇H₃₃N₆O₅S, Monokation) ber. 553.22277, gef. 553.22303; MS (ESI, positiv): m/z (%) = 553 [M]⁺ (100), 466 [M⁺ - 86] (19), 381 [M⁺ - 171] (25); HPLC-2 (isokratisch): 98.4% bei 254 nm und 99.2% bei 280 nm, t_{M+S} = 6.70 min, t_M (DMSO) = 1.20 min (ACN/Wasser = 40:60); HPLC-2 (Gradient): 97.5% bei 254 nm, t_{M+S} = 17.5 min, t_M = 1.40 min; λ_{max}: 216, 278 nm.

7-{2-[(4-Methoxy-3-(3-(5-methyl-1,1-dioxo-1,2,5-thiadiazolidin-2-yl)propoxy)phenyl)amino]pyrimidin-4-yl}-1,3,4,5-tetrahydro-2H-1-benzazepin-2-on (31c)

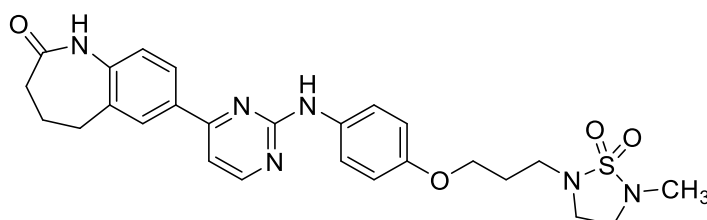


Nach AAV 1 aus 2-Methyl-1,2,5-thiadiazolidin-1,1-dioxid (**34a**, 142 mg, 1.04 mmol), Natriumhydrid (60%ige Suspension in Paraffinöl, 50 mg, 1.3 mmol) und 7-{2-[(3-(3-Chlorpropoxy)-4-methoxyphenyl)amino]-pyrimidin-4-yl}-1,3,4,5-tetrahydro-2H-1-benzazepin-2-on (**45c**, 69 mg, 0.15 mmol) in wasserfreiem *N,N*-Dimethylformamid (9 mL). Reaktionsdauer: 48 h. Das Produkt wurde via Säulenchromatographie mit Ethylacetat/Ethanol (1:0 → 0.75:0.25 → 0.5:0.5 → 0:1) und einer Umkristallisation aus Ethanol als gelbes Pulver erhalten (20 mg, 0.036 mmol, 24%).

Schmp.: 198–201 °C; IR (KBr): 3264 cm⁻¹ (NH), 1670 cm⁻¹ (C=O), 1578 cm⁻¹; ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 2.02 (quint., *J* = 6.4 Hz, 2H, CH₂), 2.10 – 2.26 (m, 4H, 2 x CH₂), 2.59 (s, 3H, CH₃), 2.78 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H, CH₂), 3.12 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH₂), 3.22 – 3.27 (m, 2H, CH₂), 3.28 – 3.33 (m, 2H, CH₂), 3.74 (s, 3H, OCH₃), 4.04 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H, CH₂), 6.93 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, ArH), 7.10 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, ArH), 7.31 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, ArH), 7.32 – 7.34 (m, 1H, ArH), 7.61 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, ArH), 8.03 (dd, *J* = 8.2, 2.1 Hz, 1H), 8.07 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H,

ArH), 8.48 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H, ArH), 9.44 (s, 1H, NH), 9.76 (s, 1H, NH); ^{13}C -NMR (151 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 33.4, 56.0 (CH₃), 27.2, 27.7, 30.2, 33.1, 44.5, 45.3, 47.0, 65.6 (CH₂), 105.9, 107.0, 111.1, 112.7, 121.6, 125.8, 128.2, 158.8 (CH), 132.7, 133.7, 134.3, 141.4, 143.9, 147.7, 160.1, 162.9, 173.2 (C); C₂₇H₃₂N₆O₅S (552.65); APCI-MS (ASAP, positiv): m/z (%) = 553 [M+H]⁺ (18); HRMS (EI): m/z [M]⁺⁺ ber. 552.21494, gef. 552.21475; HPLC-2 (isokratisch): 98.2% bei 254 nm und 97.3% bei 280 nm, $t_{M+S} = 5.35$ min, t_M (DMSO) = 1.19 min (ACN/Wasser = 40:60); HPLC-2 (Gradient): 95.6% bei 254 nm, $t_{M+S} = 9.81$ min, t_M (DMSO) = 1.16 min; λ_{max} : 289 nm.

7-{2-[(4-(3-(5-Methyl-1,1-dioxo-1,2,5-thiadiazolidin-2-yl)propoxy)phenyl)amino]pyrimidin-4-yl}-1,3,4,5-tetrahydro-2H-1-benzazepin-2-on (31d)

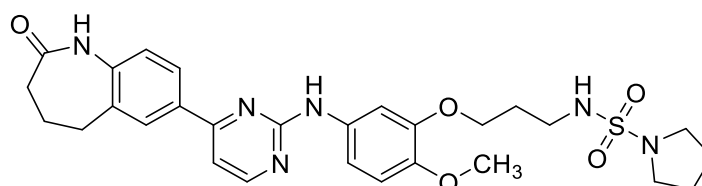


Nach AAV 1 aus 2-Methyl-1,2,5-thiadiazolidin-1,1-dioxid (**34a**, 200 mg, 1.47 mmol), Natriumhydrid (60%ige Suspension in Paraffinöl, 90 mg, 2.3 mmol) und 7-{2-[(4-(3-Brompropoxy)phenyl)amino]pyrimidin-4-yl}-1,3,4,5-tetrahydro-2H-1-benzazepin-2-on (**44a**, 100 mg, 0.214 mmol) in wasserfreiem *N,N*-Dimethylformamid (9 mL). Reaktionsdauer: 24 h. Das Produkt wurde via Säulenchromatographie mit Ethylacetat/Dichlormethan/Triethylamin (5:1:0.01) und einer präparativen HPLC mit Acetonitril/Wasser (40:60) als farbloser Feststoff (9 mg, 0.017 mmol, 8%) erhalten.

Schmp.: 190–191 °C; IR (KBr): 3434 cm⁻¹ (NH), 1667 cm⁻¹ (C=O), 1509 cm⁻¹; ^1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 1.98 (quint., $J = 6.4$ Hz, 2H, CH₂), 2.15 – 2.23 (m, 4H, 2 x CH₂), 2.61 (s, 3H, CH₃), 2.79 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H, CH₂), 3.11 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH₂), 3.22 – 3.33 (m, 4H, 2 x CH₂), 4.01 (t, $J = 6.1$ Hz, 2H, CH₂), 6.89 – 6.95 (m, 2H, ArH), 7.10 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H, ArH), 7.32 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H, ArH), 7.67 – 7.74 (m, 2H, ArH), 8.02 (dd, $J = 8.2, 2.1$ Hz, 1H), 8.06 (d, $J = 2.1$ Hz,

¹H), 8.47 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H, ArH), 9.45 (s, 1H, NH), 9.76 (s, 1H, NH); ¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 33.4 (CH₃), 27.1, 27.7, 30.2, 33.1, 44.4, 45.3, 47.0, 64.9 (CH₂), 106.9, 114.4 (2C), 120.5 (2C), 121.6, 125.8, 128.3, 158.7 (CH), 132.6, 133.7, 133.8, 141.4, 153.3, 160.2, 163.0, 173.2 (C); C₂₆H₃₀N₆O₄S (522.62); APCI-MS (ASAP, positiv): *m/z* (%) = 523 [M+H]⁺ (20); HRMS (EI): *m/z* [M]⁺⁺ ber. 522.20438, gef. 522.20445; HPLC-2 (isokratisch): 96.3% bei 254 nm und 97.6% bei 280 nm, *t*_{M+S} = 7.10 min, *t*_M (DMSO) = 1.21 min (ACN/Wasser = 40:60); HPLC-2 (Gradient): 94.4% bei 254 nm, *t*_{M+S} = 10.1 min, *t*_M (DMSO) = 1.20 min; λ_{max}: 286 nm.

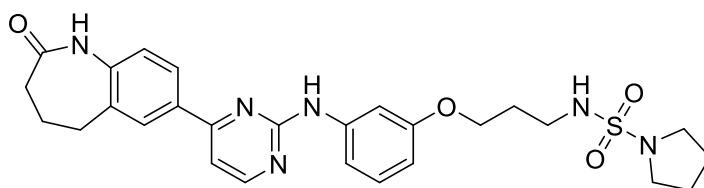
N-{3-[2-Methoxy-5-((4-(2-oxo-2,3,4,5-tetrahydro-1*H*-1-benzazepin-7-yl)pyrimidin-2-yl)amino)phenoxy]propyl}pyrrolidin-1-sulfonamid (**31e**)



In Anlehnung an die Vorschrift von Kim *et al.*¹⁴² wurde Pyrrolidin-1-sulfonamid (**34e**, 299 mg, 1.99 mmol) in wasserfreiem *N,N*-Dimethylformamid (15 mL) gelöst und in ein Eisbad (-5 °C) gestellt. Portionsweise wurde dem Ansatz Natriumhydrid (60%ige Suspension in Paraffinöl, 100 mg, 2.60 mmol) hinzugegeben und im Eisbad (5 min) gerührt. Nach Entfernen des Eisbades wurde der Ansatz für 1 h unter N₂-Atmosphäre bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde der Ansatz in ein Eisbad gestellt und diesem portionsweise 7-{2-[(3-(3-Chlorpropoxy)-4-methoxyphenyl)amino]-pyrimidin-4-yl}-1,3,4,5-tetrahydro-2*H*-1-benzazepin-2-on (**45c**, 89 mg, 0.20 mmol) hinzugegeben. Nach 10-minütigem Rühren im Eisbad wurde der Ansatz für 5 h bei 100 °C erwärmt. Die Reaktion wurde unter Feuchtigkeitsausschluss durchgeführt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde Wasser (10 mL) hinzugegeben und mit Ethylacetat extrahiert (3 x 20 mL). Die organischen Phasen wurden vereinigt, über Natriumsulfat getrocknet und zur Trockne eingeeengt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch mit Toloul/Ethanol (5:1) und einer präparativen HPLC mit Acetonitril/Wasser (40:60) aufgereinigt und als gelbes Pulver erhalten (15 mg, 0.027 mmol, 13%).

Schmp.: 154–160 °C; IR (KBr): 3429 und 3290 cm^{-1} (NH), 1673 cm^{-1} (C=O), 1579 cm^{-1} ; ^1H -NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ (ppm) = 1.74 – 1.81 (m, 4H, 2 x CH_2), 1.92 (quint., J = 6.5 Hz, 2H, CH_2), 2.12 – 2.20 (m, 2H, CH_2), 2.20 – 2.25 (m, 2H, CH_2), 2.78 (t, J = 7.1 Hz, 2H, CH_2), 3.06 – 3.15 (m, 6H, 3 x CH_2), 3.73 (s, 3H, OCH_3), 4.04 (t, J = 6.0 Hz, 2H, CH_2), 6.92 (d, J = 8.8 Hz, 1H, ArH), 7.08 – 7.13 (m, 2H, ArH und NH), 7.28 (dd, J = 8.8, 2.5 Hz, 1H), 7.33 (d, J = 5.3 Hz, 1H, ArH), 7.64 (s, 1H, ArH), 8.03 (dd, J = 8.3, 2.1 Hz, 1H, ArH), 8.07 (d, J = 2.3 Hz, 1H, ArH), 8.48 (d, J = 5.2 Hz, 1H, ArH), 9.45 (s, 1H, NH), 9.75 (s, 1H, NH); ^{13}C -NMR (151 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ (ppm) = 55.9 (CH_3), 24.9 (2C), 27.7, 29.0, 30.2, 33.1, 39.4 (Überlagerung mit dem DMSO -Signal), 47.5 (2C), 65.5 (CH_2), 105.6, 107.0, 111.0, 112.6, 121.6, 125.8, 128.2, 158.7 (CH), 132.7, 133.7, 134.3, 141.4, 143.8, 147.7, 160.1, 162.9, 173.2 (C); $\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{N}_6\text{O}_5\text{S}$ (566.68); HRMS (EI): m/z $[\text{M}]^{++}$ ber. 566.23059, gef. 566.22935; APCI-MS (ASAP, positiv): m/z (%) = 567 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (12); HPLC-2 (isokratisch): 95.4% bei 254 nm und 95.7% bei 280 nm, $t_{\text{M}+\text{S}}$ = 7.14 min, t_{M} (DMSO) = 1.19 min (ACN/Wasser = 40:60); HPLC-2 (Gradient): 95.4% bei 254 nm, $t_{\text{M}+\text{S}}$ = 10.2 min, t_{M} (DMSO) = 1.16 min; λ_{max} : 289 nm.

N-{3-[3-((4-(2-Oxo-2,3,4,5-tetrahydro-1*H*-benzazepin-7-yl)pyrimidin-2-yl)amino)phenoxy]propyl}pyrrolidin-1-sulfonamid (31f)

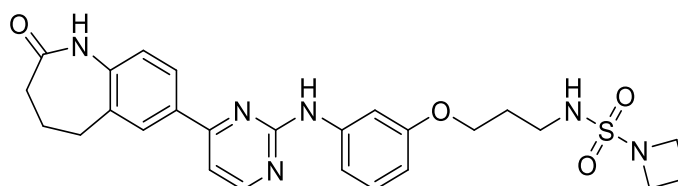


Nach AAV 4 wurden zu einer Lösung aus 7-{2-[(3-(3-Chlorpropoxy)phenyl)amino]-pyrimidin-4-yl}-1,3,4,5-tetrahydro-2*H*-1-benzazepin-2-on (**45b**, 100 mg, 0.237 mmol) in wasserfreiem *N,N*-Dimethylformamid (9 mL), Kaliumcarbonat (131 mg, 0.948 mmol), Pyrrolidin-1-sulfonamid (**34e**, 179 mg, 1.19 mmol) und Natriumiodid (23 mg, 0.15 mmol) hinzugegeben. Die gelbliche Suspension wurde für 22 h bei 80 °C erhitzt. Durch eine präparative HPLC mit Acetonitril/Wasser (40:60) wurde das Produkt als farbloses Pulver erhalten (20 mg, 0.037 mmol, 16%).

Schmp.: 225 °C (Erweichen und Verfärbung beginnend bei 100 °C); IR (KBr): 3434 cm^{-1} (NH), 1667 cm^{-1} (C=O), 1578 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ (ppm) = 1.73 – 1.82 (m, 4H, 2 x CH_2), 1.91 (quint., $J = 6.9$ Hz, 2H, CH_2), 2.13 – 2.25 (m, 4H, 2 x CH_2), 2.79 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H, CH_2), 3.09 (q, $J = 7.0$ Hz, 2H, CH_2), 3.11 – 3.15 (m, 4H, 2 x CH_2), 4.03 (t, $J = 6.1$ Hz, 2H, CH_2), 6.54 (ddd, $J = 8.1, 2.5, 1.0$ Hz, 1H, ArH), 7.11 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, ArH), 7.15 (t, $J = 5.9$ Hz, 1H, NH), 7.19 (t, $J = 8.2$ Hz, 1H, ArH), 7.32 (ddd, $J = 8.3, 2.1, 0.9$ Hz, 1H, ArH), 7.40 (d, $J = 5.3$ Hz, 1H, ArH), 7.68 (t, $J = 2.4$ Hz, 1H, ArH), 8.04 (dd, $J = 8.3, 2.1$ Hz, 1H, ArH), 8.11 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H, ArH), 8.54 (d, $J = 5.1$ Hz, 1H, ArH), 9.65 (s, 1H, NH), 9.76 (s, 1H, NH); $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ (ppm) = 24.9 (2C), 27.7, 29.0, 30.2, 33.1, 39.4 (Überlagerung mit dem DMSO-Signal), 47.5 (2C), 64.4 (CH_2), 105.0, 107.0, 107.6, 111.2, 121.6, 125.9, 128.3, 129.1, 158.8 (CH), 132.5, 133.7, 141.5, 141.8, 158.8, 160.0, 163.0, 173.2 (C); $\text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{N}_6\text{O}_4\text{S}$ (536.65); HRMS (ESI): m/z ($\text{C}_{27}\text{H}_{33}\text{N}_6\text{O}_4\text{S}$, Monokation) ber. 537.22785, gef. 537.22812; MS (ESI, positiv): m/z (%) = 537 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100), 381 $[\text{M}^+ -155]$ (15), 466 $[\text{M}^+ -70]$ (11); HPLC (isokratisch): 99.6% bei 254 nm und 99.9% bei 280 nm, $t_{\text{M}+\text{S}} = 10.3$ min, t_{M} (DMSO) = 1.20 min (ACN/Wasser = 40:60); HPLC (Gradient): 99.6% bei 254 nm, $t_{\text{M}+\text{S}} = 10.6$ min, $t_{\text{M}} = 1.23$ min; λ_{max} : 213, 280 nm.

Im $^{13}\text{C-NMR}$ liegt eine Überlagerung des Signals bei 158.8 ppm für ein quartäres und ein tertiäres Kohlenstoffatom vor.

N-{3-[3-((4-(2-Oxo-2,3,4,5-tetrahydro-2*H*-1-benzazepin-7-yl)pyrimidin-2-yl)amino)phenoxy]propyl}azetidin-1-sulfonamid (**31g**)



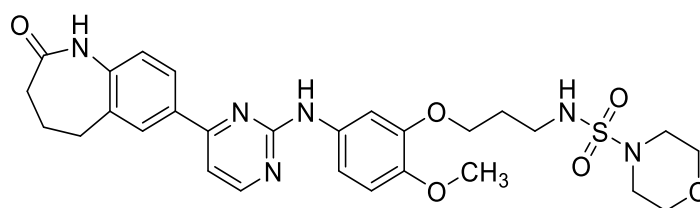
Nach AAV 4 wurden zu einer Lösung aus 7-{2-[(3-(3-Chlorpropoxy)phenyl)amino]-pyrimidin-4-yl}-1,3,4,5-tetrahydro-2*H*-1-benzazepin-2-on (**45b**, 121 mg, 0.285 mmol) in wasserfreiem *N,N*-Dimethylformamid (9 mL) Kaliumcarbonat (157 mg, 1.14 mmol), Azetidin-1-sulfonamid (**34f**, 193 mg, 1.42 mmol) und

Natriumiodid (26 mg, 0.17 mmol) hinzugegeben. Die gelbliche Suspension wurde für 22 h bei 80 °C erhitzt. Durch eine präparative HPLC mit Acetonitril/Wasser (40:60) wurde das Produkt als farbloses Pulver erhalten (50 mg, 0.096 mmol, 34%).

Schmp.: 248 °C (Erweichen und Verfärbung beginnend bei 115 °C); IR (KBr): 3280 cm⁻¹ (NH), 1668 cm⁻¹ (C=O), 1579 cm⁻¹; ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 1.92 (quint., *J* = 6.6 Hz, 2H, CH₂), 2.01 – 2.11 (m, 2H, CH₂), 2.12 – 2.26 (m, 4H, 2 x CH₂), 2.79 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H, CH₂), 3.12 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H, CH₂), 3.68 (t, *J* = 7.7 Hz, 4H, 2 x CH₂), 4.03 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H, CH₂), 6.55 (ddd, *J* = 8.2, 2.4, 0.9 Hz, 1H, ArH), 7.11 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, ArH), 7.20 (t, *J* = 8.2 Hz, 1H, ArH), 7.24 (t, *J* = 6.0 Hz, 1H, ArH), 7.30 – 7.36 (m, 1H, NH), 7.39 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H, ArH), 7.68 (t, *J* = 2.1 Hz, 1H, ArH), 8.04 (dd, *J* = 8.2, 2.1 Hz, 1H, ArH), 8.11 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, ArH), 8.54 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H, ArH), 9.64 (s, 1H, NH), 9.76 (s, 1H, NH); ¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 14.4, 27.7, 29.2, 30.2, 33.1, 39.4 (Überlagerung mit dem DMSO-Signal), 49.7 (2C), 64.4 (CH₂), 105.0, 107.0, 107.6, 111.2, 121.6, 125.9, 128.3, 129.1, 158.8 (CH), 132.5, 133.7, 141.5, 141.8, 158.8, 160.0, 163.0, 173.2 (C); C₂₆H₃₀N₆O₄S (522.62); HRMS (EI): *m/z* [M]⁺⁺ ber. 522.20438, gef. 522.20251; MS (ESI, positiv): *m/z* (%) = 523 [M]⁺ (100), 466 [M⁺ - 56] (18), 381 [M⁺ - 141] (5); HPLC-2 (isokratisch): 96.9% bei 254 nm und 99.8% bei 280 nm, *t*_{M+S} = 7.68 min, *t*_M (DMSO) = 1.20 min (ACN/Wasser = 40:60); HPLC-2 (Gradient): 99.1% bei 254 nm, *t*_{M+S} = 10.2 min, *t*_M = 1.27 min; λ_{max}: 212, 281 nm.

Im ¹³C-NMR liegt eine Überlagerung des Signals bei 158.8 ppm für ein quartäres und ein tertiäres Kohlenstoffatom vor.

N-{3-[2-Methoxy-5-((4-(2-oxo-2,3,4,5-tetrahydro-2*H*-1-benzazepin-7-yl)pyrimidin-2-yl)amino)phenoxy]propyl}morpholin-4-sulfonamid (**31h**)

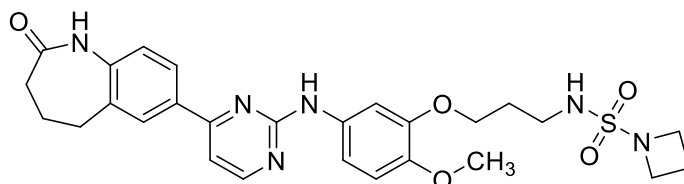


Nach AAV 4 wurden zu einer Lösung 7-{2-[(3-(3-Chlorpropoxy)4-methoxyphenyl)amino]pyrimidin-4-yl}-1,3,4,5-tetrahydro-2*H*-1-benzazepin-2-on (**45c**, 150 mg, 0.331 mmol) in wasserfreiem *N,N*-Dimethylformamid (9 mL) Kaliumcarbonat (229 mg, 1.66 mmol), Morpholin-4-sulfonamid (**34b**, 275 mg, 1.66 mmol) und Natriumiodid (30 mg, 0.20 mmol) hinzugegeben. Die gelbliche Suspension wurde für 23 h bei 80 °C erhitzt. Durch eine präparative HPLC mit Acetonitril/Wasser (40:60) wurde das Produkt als farbloses Pulver erhalten (12 mg, 0.021 mmol, 6%).

Schmp.: 176 °C (Erweichen und Verfärbung beginnend bei 100 °C); IR (KBr): 3433 cm⁻¹ (NH), 1672 cm⁻¹ (C=O), 1578 cm⁻¹; ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 1.93 (quint., *J* = 6.4 Hz, 2H, CH₂), 2.12 – 2.25 (m, 4H, 2 x CH₂), 2.78 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH₂), 2.97 – 3.02 (m, 4H, 2 x CH₂), 3.11 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H, CH₂), 3.57 – 3.61 (m, 4H, 2 x CH₂), 3.74 (s, 3H, OCH₃), 4.04 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H, CH₂), 6.92 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, ArH), 7.10 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, ArH), 7.29 (dd, *J* = 8.8, 2.5 Hz, 1H, ArH), 7.33 (d, *J* = 5.3 Hz, 1H, ArH), 7.35 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H, NH), 7.64 (s, 1H, ArH), 8.03 (dd, *J* = 8.3, 2.3 Hz, 1H, ArH), 8.08 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, ArH), 8.48 (d, *J* = 5.1 Hz, 1H, ArH), 9.45 (s, 1H, NH), 9.75 (s, 1H, NH); ¹³C-NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 55.9 (CH₃), 27.7, 29.1, 30.2, 33.1, 39.4 (Überlagerung mit dem DMSO-Signal), 45.7 (2C), 65.4 (2C), 65.5 (CH₂), 105.6, 107.0, 111.0, 112.6, 121.6, 125.8, 128.2, 158.8 (CH), 132.7, 133.7, 134.3, 141.4, 143.8, 147.6, 160.1, 162.9, 173.2 (C); C₂₈H₃₄N₆O₆S (582.68); HRMS (ESI): *m/z* (C₂₈H₃₅N₆O₆S, Monokation) ber. 583.23333, gef. 583.23362; MS (ESI, positiv): *m/z* (%) = 583 [M]⁺ (100), 381 [M⁺ - 201] (37), 102 [M⁺ - 480] (74); HPLC-2 (isokratisch): 94.8% bei 254 nm und 95.1% bei 280 nm, *t*_{M+S} = 5.43 min,

t_M (DMSO) = 1.20 min (ACN/Wasser = 40:60); HPLC-2 (Gradient): 95.9% bei 254 nm, t_{M+S} = 9.77 min, t_M = 1.27 min; λ_{max} : 289 nm.

N-{3-[2-Methoxy-5-((4-(2-oxo-2,3,4,5-tetrahydro-1*H*-1-benzazepin-7-yl)pyrimidin-2-yl)amino)phenoxy]propyl}azetidin-1-sulfonamid (**31i**)

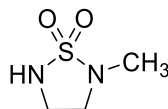


Nach AAV 4 wurden zu einer Lösung aus 7-{2-[(3-(3-Chlorpropoxy)-4-methoxyphenyl)amino]-pyrimidin-4-yl}-1,3,4,5-tetrahydro-2*H*-1-benzazepin-2-on (**45c**, 78 mg, 0.17 mmol) in wasserfreiem *N,N*-Dimethylformamid (9 mL) Kaliumcarbonat (95 mg, 0.69 mmol), Azetidin-1-sulfonamid (**34f**, 117 mg, 0.859 mmol) und Natriumiodid (16 mg, 0.11 mmol) hinzugegeben. Die gelbliche Suspension wurde für 48 h auf 80 °C erhitzt wurde. Durch eine präparative HPLC mit Acetonitril/Wasser (40:60) wurde das Produkt als gelbes Pulver erhalten (25 mg, 0.045 mmol, 26%).

Schmp.: 167–170 °C; IR (KBr): 3279 cm^{-1} (NH), 1669 cm^{-1} (C=O), 1578 cm^{-1} ; ^1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 1.93 (quint., J = 6.6 Hz, 2H, CH_2), 2.02 – 2.10 (m, 2H, CH_2), 2.13 – 2.26 (m, 4H, 2 x CH_2), 2.78 (t, J = 7.0 Hz, 2H, CH_2), 3.13 (q, J = 7.0 Hz, 2H, CH_2), 3.68 (t, J = 7.4 Hz, 4H, 2 x CH_2), 3.74 (s, 3H, OCH_3), 4.04 (t, J = 6.1 Hz, 2H, CH_2), 6.92 (d, J = 8.9 Hz, 1H, ArH), 7.10 (d, J = 8.3 Hz, 1H, ArH), 7.19 (t, J = 5.8 Hz, 1H, NH), 7.29 (dd, J = 8.8, 2.5 Hz, 1H, ArH), 7.33 (d, J = 5.3 Hz, 1H, ArH), 7.65 (s, 1H, ArH), 8.03 (dd, J = 8.3, 2.3 Hz, 1H, ArH), 8.08 (d, J = 2.3 Hz, 1H, ArH), 8.48 (d, J = 5.3 Hz, 1H, ArH), 9.45 (s, 1H, NH), 9.75 (s, 1H, NH); ^{13}C -NMR (151 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 55.9 (CH_3), 14.4, 27.7, 29.2, 30.2, 33.1, 39.4 (Überlagerung mit dem DMSO-Signal), 49.7 (2C), 65.5 (CH_2), 105.6, 107.0, 111.0, 112.6, 121.6, 125.8, 128.2, 158.8 (CH), 132.7, 133.7, 134.3, 141.4, 143.8, 147.7, 160.1, 162.9, 173.2 (C); $\text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{N}_6\text{O}_5\text{S}$ (552.65); HRMS (EI): m/z [M] $^{++}$ ber. 552.21494, gef. 552.21431; APCI-MS (ASAP, positiv): m/z (%) = 553 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ (7); HPLC-2 (isokratisch): 97.9% bei 254 nm und 98.9% bei 280 nm, t_{M+S} =

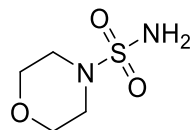
6.20 min, t_M (DMSO) = 1.29 min (ACN/H₂O = 40:60); HPLC-2 (Gradient): 96.6% bei 254 nm, t_{M+S} = 9.98 min, t_M (DMSO) = 1.17 min; λ_{\max} : 289 nm.

2-Methyl-1,2,5-thiadiazolidin-1,1-dioxid (34a)^{142, 143}



In Anlehnung an die Vorschriften nach KIM *et al.*¹⁴² und DOU *et al.*⁸³ wurde Sulfamid (1.300 g, 13.53 mmol) in getrocknetem Pyridin (30 mL) gelöst und unter N₂-Atmosphäre zum Rückfluss erhitzt. Dabei wurde tropfenweise, innerhalb einer Stunde, *N*-Methylethylendiamin (1.0 mL, 11 mmol) hinzugegeben. Anschließend wurde der Reaktionsansatz für 8 h unter Rückfluss und N₂-Atmosphäre erhitzt. Pyridin wurde im Vakuum eingeengt und der zurückbleibende gelbliche, ölige Rückstand (Rohprodukt) in gesättigter Natriumchloridlösung (20 mL) aufgenommen und mit Ethylacetat (3 x 20 mL) extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt, nacheinander mit 1 M Salzsäure (20 mL) und gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und zur Trockne eingeengt. Der Rückstand aus einem gelblichen Öl und farblosen Feststoff wurde getrennt. Der farblose Feststoff wurde in einer Ausbeute von 0.85% (13 mg, 0.096 mmol) erhalten.

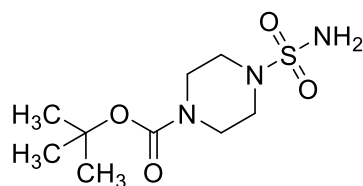
Schmp.: 210–215 °C (Lit.¹⁴²: 80–83 °C); IR (KBr): 3308 cm⁻¹ (NH), 1312 cm⁻¹, 1152 cm⁻¹; ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 2.63 (s, 3H, CH₃), 3.05 – 3.09 (m, 2H, CH₂), 3.10 – 3.18 (m, 2H, CH₂), 7.71 (t, J = 5.8 Hz, 1H, NH); ¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 46.7 (CH₃), 32.8, 38.6 (CH₂); C₃H₈N₂O₂S (136.17): ber. C 26.46, H 5.92 N 20.57, gef. C 26.55, H 6.01, N 20.41; APCI-MS (ASAP, positiv): m/z (%) = 137 [M+H]⁺ (99), 273 [2M+H]⁺ (100).

Morpholin-4-sulfonamid (34b)¹⁴⁴

Nach AAV 5 aus Sulfamid (151 mg, 1.58 mmol) und Morpholin (72 mg, 0.83 mmol) in 1,4-Dioxan (15 mL). Reaktionsdauer: 48 h. Dem weiß-gelblichen Rückstand wurde Wasser (20 mL) zugegeben und mit Ethylacetat (4 x 20 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet, zur Trockne eingeeengt und mit Toluol umkristallisiert. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff (80 mg, 0.48 mmol, 58%) erhalten.

Schmp: 157–159 °C; IR (KBr): 3307 und 3185 cm⁻¹ (NH), 1352 cm⁻¹, 1156 cm⁻¹; ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 2.89 – 2.94 (m, 4H, 2 x CH₂), 3.62 – 3.67 (m, 4H, 2 x CH₂), 6.83 (s, 2H, NH₂); ¹³C-NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 45.9 (2C), 65.2 (2C) (CH₂); C₄H₁₀N₂O₃S (166.20); CHN: ber. C 28.91, H 6.07, N 16.86, gef. C 29.32, H 6.06, N 16.69; APCI-MS (ASAP, positiv): *m/z* (%) = 167 [M+H]⁺ (14).

Die ¹H-NMR-spektroskopischen Daten entsprechen der Literatur.¹⁴⁴

tert-Butyl-4-sulfamoylpiperazin-1-carboxylat (34c)¹⁴⁴

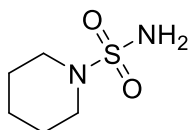
Nach AAV 5 aus Sulfamid (150 mg, 1.56 mmol) und *tert*-Butylpiperazin-1-carboxylat (58 mg, 0.31 mmol) in 1,4-Dioxan (15 mL). Reaktionsdauer: 24 h. Dem gelblichen Rückstand wurde Wasser (15 mL) zugegeben und mit Ethylacetat (3 x 15 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Natriumchloridlösung (2 x 15 mL) gewaschen und über wasserfreiem

Natriumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde dem farblosen öligen Rückstand Diethylether (3 mL) hinzugegeben. Der dabei entstandene farblose Niederschlag wurde abgesaugt und als farbloser Feststoff erhalten (48 mg, 0.18 mmol, 58%).

Schmp.: 169–170 °C; IR (KBr): 3352 und 3240 cm^{-1} (NH), 1683 cm^{-1} (C=O), 1362 cm^{-1} , 1170 cm^{-1} ; ^1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 1.41 (s, 9H, *tert*-Butyl), 2.89 (t, J = 5.5 Hz, 4H, 2 x CH_2), 3.36 – 3.43 (m, 4H, 2 x CH_2), 6.82 (s, 2H, NH_2); ^{13}C -NMR (151 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 27.9 (3C) (CH_3), 45.6 (4C) (CH_2), 79.2, 153.6 (C); $\text{C}_9\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$ (265.33); CHN: ber. C 40.74, H 7.22 N 15.84, gef. C 40.40, H 7.08, N 15.39; APCI-MS (ASAP, negativ): m/z (%) = 264 $[\text{M-H}]^-$ (100).

Die ^1H -NMR-spektroskopischen Daten entsprechen der Literatur.¹⁴⁴

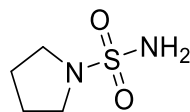
Piperidin-1-sulfonamid (34d)¹⁴⁴



Nach AAV 5 aus Sulfamid (500 mg, 5.20 mmol) und Piperidin (276 mg, 3.24 mmol) in 1,4-Dioxan (25 mL). Reaktionsdauer: 24 h. Dem weiß-gelblichen Rückstand wurde Chloroform (20 mL) zugegeben und die entstehende Suspension filtriert. Das Filtrat wurde zur Trockne eingeeengt und das Produkt als gelber Feststoff (319 mg, 1.95 mmol, 60%) erhalten.

Schmp.: 115–118 °C (Lit.¹⁷⁴: 119–120°C); IR (KBr): 3343 und 3258 cm^{-1} (NH), 1347 cm^{-1} , 1159 cm^{-1} ; ^1H -NMR (500 MHz, Chloroform- d): δ (ppm) = 1.50 – 1.58 (m, 2H, CH_2), 1.65 – 1.73 (m, 4H, 2 x CH_2), 3.12 – 3.18 (m, 4H, 2 x CH_2), 4.37 (s, 2H, NH_2); ^{13}C -NMR (126 MHz, Chloroform- d): δ (ppm) = 23.6, 25.0 (2C), 47.2 (2C) (CH_2); $\text{C}_5\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ (164.22); CHN: ber. C 36.57, H 7.37 N 17.06, gef. C 36.63, H 7.54, N 16.89; APCI-MS (ASAP, positiv): m/z (%) = 165 $[\text{M+H}]^+$ (97).

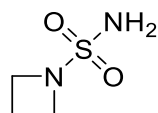
Pyrrolidin-1-sulfonamid (34e)¹⁴⁴



Nach AAV 5 aus Sulfamid (150 mg, 1.56 mmol) und Pyrrolidin (67 mg, 0.94 mmol) in 1,4-Dioxan (15 mL). Reaktionsdauer: 24 h. Dem weiß-gelblichen Rückstand wurde Chloroform (20 mL) zugegeben und die entstehende Suspension filtriert. Das Lösungsmittel im Filtrat wurde unter vermindertem Druck eingeeengt und das Produkt als farbloser Feststoff erhalten (120 mg, 0.80 mmol, 85%).

Schmp.: 93–95 °C; IR (KBr): 3338 und 3254 cm⁻¹ (NH), 1341 cm⁻¹, 1167 cm⁻¹; ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 1.74 – 1.83 (m, 4H, 2 x CH₂), 3.05 – 3.12 (m, 4H, 2 x CH₂), 6.68 (s, 2H, NH₂); ¹³C-NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 24.7 (2C), 47.5 (2C) (CH₂); C₄H₁₀N₂O₂S (150.20); CHN: ber. C 31.99, H 6.71, N 18.65, gef. C 32.12, H 6.72, N 18.62; APCI-MS (ASAP, positiv): *m/z* (%) = 151 [M+H]⁺ (82).

Azetidin-1-sulfonamid (34f)¹⁴⁴



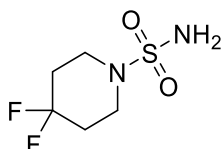
Nach AAV 5 aus Sulfamid (58 mg, 0.61 mmol) und Azetidin (50 mg, 0.88 mmol) und in 1,4-Dioxan (15 mL). Reaktionsdauer: 24 h. Der gelbliche Rückstand wurde in heißem Dichlormethan (20 mL) aufgenommen und die entstehende Suspension filtriert. Das Filtrat wurde unter vermindertem Druck eingeeengt und das Produkt als farbloser Feststoff erhalten (15 mg, 0.11 mmol, 15%).

Schmp.: 134–136 °C; IR (KBr): 3360 und 3279 cm⁻¹ (NH), 1329 cm⁻¹, 1163 cm⁻¹; ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 2.06 (quint., *J* = 7.6 Hz, 2H, CH₂), 3.67 (t, *J* = 7.6 Hz, 4H, 2 x CH₂), 6.84 (s, 2H, NH₂); ¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆):

δ (ppm) = 14.4, 49.8 (2C) (CH₂); C₃H₈N₂O₂S (136.17); CHN: ber. C 26.46, H 5.92, N 20.57, gef. C 26.38, H 5.77, N 20.11; APCI-MS (ASAP, positiv): m/z (%) = 137 [M+H]⁺ (100).

Die ¹H-NMR-spektroskopischen Daten entsprechen der Literatur.¹⁴⁴

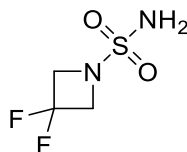
4,4-Difluorpiperidin-1-sulfonamid (34g)¹⁴⁵



Nach einer Vorschrift von LANGE *et al.*¹⁴⁵ wurden zu einer Suspension aus 4,4-Difluorpiperidinhydrochlorid (80 mg, 0.51 mmol) in Butylacetat (20 mL) Sulfamid (50 mg, 0.52 mmol) und *N,N*-Diisopropylethylamin (96 μ L, 0.55 mmol) hinzugegeben und für 24 h zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde Butylacetat unter Anlegen eines Vakuums entfernt und der rotbraune Rückstand in Ethylacetat (20 mL) aufgenommen. Diese Lösung wurde mit 1 M HCl (20 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und zur Trockne eingeeengt. Der rotbraune Rückstand wurde aus Toluol umkristallisiert und als beigefarbene Kristalle erhalten (30 mg, 0.15 mmol, 29%).

Schmp.: 118–120 °C (Lit.¹⁴⁵: 111–112 °C); IR (KBr): 3376 cm⁻¹ und 3286 cm⁻¹ (NH), 1343 cm⁻¹, 1189 cm⁻¹; ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 2.03 – 2.13 (m, 4H, 2 x CH₂), 3.13 (t, J = 6.7 Hz, 4H, 2 x CH₂), 6.92 (s, 2H, NH₂); ¹³C-NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 32.4 (t, ² $J_{C,F}$ = 23.8 Hz, C-C-F₂, 2C), 43.2 (t, ³ $J_{C,F}$ = 5.8 Hz, C-C-C-F₂, 2C), 122.1 (t, ¹ $J_{C,F}$ = 241.8 Hz, C-F₂) (C); C₅H₁₀F₂N₂O₂S (200.20); CHN: ber. C 30.00, H 5.03, N 13.99, gef. C 29.77, H 4.85, N 13.72; APCI-MS (ASAP, positiv): m/z (%) = 201 [M+H]⁺ (100).

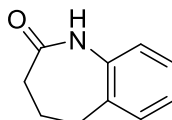
Die ¹H-NMR-spektroskopischen Daten entsprechen der Literatur.¹⁴⁵

3,3-Difluorazetidin-1-sulfonamid (34h)¹⁴⁶

In Anlehnung an die Vorschrift von AKKARI *et al.*¹⁴⁶ wurden 3,3-Difluorazetidinhydrochlorid (202 mg, 1.56 mmol) und Sulfamid (100 mg, 1.04 mmol) in 1,4-Dioxan (20 mL) suspendiert. Zu dieser Suspension wurde unter Rühren tropfenweise Triethylamin (127 μ L, 1.72 mmol) hinzugegeben. Anschließend wurde für 24 h zum Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Lösemittel unter vermindertem Druck entfernt. Der gelblich-ölige Rückstand wurde in Wasser (10 mL) aufgenommen und mit Ethylacetat (4 x 20 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel unter vermindertem Druck entfernt. Der gelbliche Rückstand wurde aus Toluol umkristallisiert und als farbloser Feststoff erhalten (55 mg, 0.32 mmol, 31%).

Schmp.: 114–118 °C; IR (KBr): 3367 cm^{-1} und 3261 cm^{-1} (NH), 1344 cm^{-1} , 1155 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 4.19 (t, $^3J_{\text{H,F}} = 12.8$ Hz, 4H, $\underline{\text{H-F}_2}$, 2 x CH_2), 7.32 (s, 2H, NH_2); $^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 60.9 (t, $^2J_{\text{C,F}} = 26.2$, $\underline{\text{C-C-F}_2}$, 2C), 114.7 (t, $^1J_{\text{C,F}} = 273.2$, $\underline{\text{C-F}_2}$); $\text{C}_3\text{H}_6\text{F}_2\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ (172.15); APCI-MS (ASAP, positiv): m/z (%) = 173 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (11).

Die $^1\text{H-NMR}$ -Daten stimmen mit der Literatur überein.¹⁷⁵

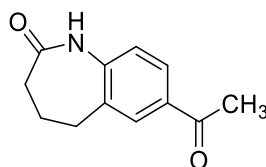
1,3,4,5-Tetrahydro-2H-1-benzazepin-2-on (36)^{132, 147}

Zu einer Mischung aus α -Tetralon (14.7 g, 101 mmol) in Eisessig (70 mL) wurde bei Raumtemperatur portionsweise Natriumazid (8.45 g, 130 mmol)

hinzugegeben. Dem Reaktionsgemisch wurde über 1 h konzentrierte Schwefelsäure (15 mL) zugetropft. Nach erfolgter Zugabe wurde der Reaktionsansatz für 30 min bei 60 °C erwärmt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die Suspension zu 10%iger Natriumcarbonat-Lösung (750 mL) gegeben. Der entstehende bräunliche Niederschlag wurde abgesaugt und mit wenig eiskaltem Methanol gewaschen. Nach Umkristallisation aus Ethylacetat wurden farblose Kristalle erhalten (9.4 g, 58 mmol 58%).

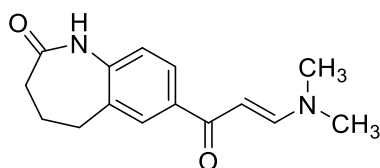
Schmp: 140–141 °C (Lit.¹⁷⁶: 140–141 °C); C₁₀H₁₁NO (161.20); APCI-MS (ASAP, positiv): m/z (%) = 162 [M+H]⁺ (100).

7-Acetyl-1,3,4,5-tetrahydro-2H-1-benzazepin-2-on (**37**)^{132, 148}



Zu einer Mischung aus 1,3,4,5-Tetrahydro-2H-1-benzazepin-2-on (**36**, 4.8 g, 30 mmol), wasserfreiem Aluminiumchlorid (22.6 g, 169 mmol) und Schwefelkohlenstoff (100 mL) wurde bei Raumtemperatur unter Rühren tropfenweise Acetylchlorid (5.7 mL, 80 mmol) hinzugegeben und anschließend für 3 h bei 60 °C erhitzt. Der Ansatz wurde zur Trockne eingeeengt und der zurückbleibende rotbraune, harzige Rückstand vorsichtig zu einer Eis-Wasser-Mischung (100 g) hinzugegeben. Diese Mischung wurde in Dichlormethan (100 mL) aufgenommen. Die organische Phase wurde mit gesättigter Natriumchloridlösung (3 x 70 mL) und Wasser (70 mL) gewaschen. Anschließend wurde die organische Phase über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und zur Trockne eingeeengt. Nach Umkristallisation aus Ethylacetat wurde ein gelbes Pulver erhalten (1.7 g, 8.4 mmol, 28%).

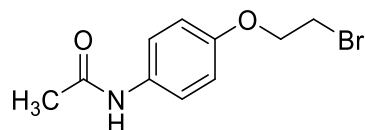
Schmp.: 157–162 °C (Lit.¹⁴⁸: 160–162 °C); C₁₂H₁₃NO₂ (203.24); APCI-MS (ASAP, positiv): m/z (%) = 204 [M+H]⁺ (100).

7-[3-(Dimethylamino)acryloyl]-1,3,4,5-tetrahydro-2H-1-benzazepin-2-on (38)¹³²

Eine Mischung aus 7-Acetyl-1,3,4,5-tetrahydro-2H-1-benzazepin-2-on (**37**) (1.3 g, 6.4 mmol) und *N,N*-Dimethylformamid-Dimethylacetal (12.7 mL, 96.0 mmol) wurden 13 h bei 115 °C erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde Diethylether (3 mL) hinzugegeben. Die entstehende gelbliche Suspension wurde abgesaugt und mit wenig kaltem Diethylether gewaschen. Nach Umkristallisation aus Ethylacetat wurde ein hellgelbes Pulver erhalten (1.1 g, 4.3 mmol, 67%).

Schmp: 221–223 °C (Lit.¹³²: 223 °C); IR (KBr): 3182 cm⁻¹ (NH), 1672 cm⁻¹ (C=O), 1642 cm⁻¹ (C=O); ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 2.08 – 2.21 (m, 4H, 2 x CH₂), 2.74 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H, CH₂), 2.91 (s, 3H, CH₃), 3.14 (s, 3H, CH₃), 5.83 (d, *J* = 12.3 Hz, 1H, C=CH), 6.98 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, ArH), 7.69 (d, *J* = 12.2 Hz, 1H, C=CH), 7.76 (dd, *J* = 8.2, 2.1 Hz, 1H, ArH), 7.80 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, ArH), 9.68 (s, 1H, NH); ¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 37.0, 44.4 (CH₃), 27.8, 30.0, 33.0 (CH₂), 90.7, 120.8, 126.3, 128.8, 153.9 (CH), 132.9, 136.2, 141.3, 173.2, 184.7 (C); C₁₅H₁₈N₂O₂ (258.32); APCI-MS (ASAP, positiv): *m/z* (%) = 259 [M+H]⁺ (100).

Die spektroskopischen Daten entsprechen der Literatur.¹³²

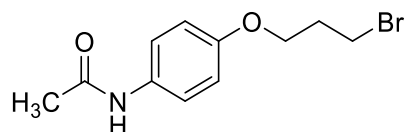
N-[4-(2-Bromethoxy)phenyl]acetamid (42a)

Nach einer Vorschrift von ROSA *et al.*¹⁵² wurden Paracetamol (1.0 g, 6.6 mmol) und 1,2-Dibromethan (3.1 g, 18 mmol) in 1 M methanolischer Kaliumhydroxid-Lösung (8 mL) und Tetrahydrofuran (1 mL) gelöst. Anschließend erfolgte eine

Mikrowellensynthese bei 90 °C (200 Watt, 290 psi, 10min). Die Suspension wurde in gesättigter Natriumchloridlösung (20 mL) aufgenommen und mit Ethylacetat (20 mL) extrahiert. Anschließend wurde die organische Phase mit gesättigter Natriumchloridlösung (20 mL) gewaschen, über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und zur Trockne eingengt. Nach Umkristallisation aus Ethanol 70% wurde ein weißes, kristallines Pulver erhalten (205 mg, 0.794 mmol, 12%).

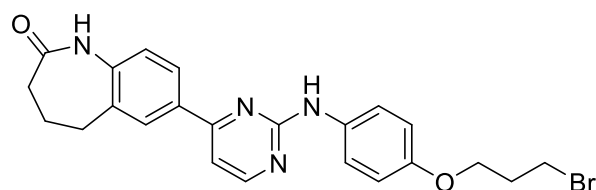
Schmp.: 124–126 °C (Lit.¹⁷⁷: 125–126 °C); IR (KBr): 3297 cm⁻¹ (NH), 1660 cm⁻¹ (C=O); ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 2.00 (s, 3H, CH₃), 3.78 (t, *J* = 5.1, 2H, CH₂), 4.26 (t, *J* = 5.1, 2H, CH₂), 6.86 – 6.93 (m, 2H, ArH), 7.45 – 7.51 (m, 2H, ArH), 9.80 (s, 1H, NH); ¹³C-NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 23.7 (CH₃), 31.5, 67.8 (CH₂), 114.6 (2C), 120.4 (2C) (CH), 133.0, 153.5, 167.7 (C); C₁₀H₁₂BrNO₂ (257.12); APCI-MS (ASAP, positiv): *m/z* (%) = 258 [M+H]⁺ (100).

N-[4-(3-Brompropoxy)phenyl]acetamid (**42b**)



Nach AAV 6 aus Paracetamol (100 mg, 0.662 mmol), wasserfreiem Kaliumcarbonat (183 mg, 1.32 mmol) und 1,3-Dibrompropan (670 µL, 6.57 mmol) in getrocknetem Aceton (5 mL). Es wurde 8 h zum Rückfluss erhitzt. Nach Umkristallisation aus Toluol wurde ein farbloser Feststoff erhalten (68 mg, 0.25 mmol, 38%).

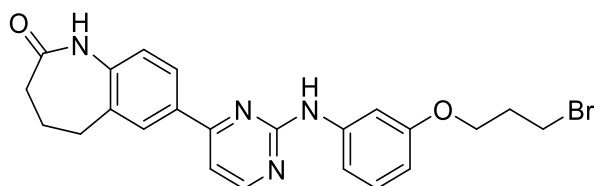
Schmp.: 133–135 °C; IR (KBr): 3286 cm⁻¹ (NH), 1659 cm⁻¹ (C=O); ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 2.00 (s, 3H, CH₃), 2.22 (quint., *J* = 6.3 Hz, 2H, CH₂), 3.66 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H, CH₂), 4.03 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H, CH₂), 6.84 – 6.91 (m, 2H, ArH), 7.43 – 7.50 (m, 2H, ArH), 9.78 (s, 1H, NH); ¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 23.7 (CH₃), 31.3, 31.8, 65.3 (CH₂), 114.4 (2C), 120.5 (2C) (CH), 132.7, 154.0, 167.7 (C); C₁₁H₁₄BrNO₂ (272.14); APCI-MS (ASAP, positiv): *m/z* (%) = 272 [M+H]⁺ (100).

7-{2-[(4-(3-Brompropoxy)phenyl)amino]pyrimidin-4-yl}-1,3,4,5-tetrahydro-2H-1-benzazepin-2-on (44a)

Nach AAV 6 aus 7-{2-[(4-Hydroxyphenyl)amino]pyrimidin-4-yl}-1,3,4,5-tetrahydro-2H-1-benzazepin-2-on (**30e**, 100 mg, 0.290 mmol), wasserfreiem Kaliumcarbonat (80 mg, 0.58 mmol) und 1,3-Dibrompropan (300 μ L, 2.90 mmol) in trockenem Aceton (8 mL). Es wurde 24 h zum Rückfluss erhitzt. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung mit Ethylacetat/Triethylamin (50:1) wurde ein gelber Feststoff erhalten (27 mg, 0.058 mmol, 20%).

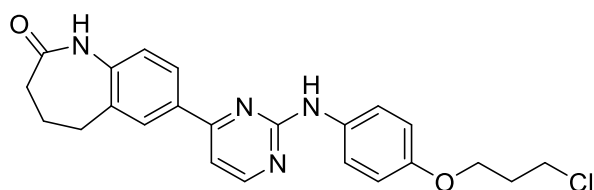
Schmp.: 186–188 °C; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ (ppm) = 2.13 – 2.28 (m, 6H, 3 x CH_2), 2.79 (t, J = 6.9 Hz, 2H, CH_2), 3.68 (t, J = 6.6 Hz, 2H, CH_2), 4.06 (t, J = 6.0 Hz, 2H, CH_2), 6.90 – 6.97 (m, 2H, ArH), 7.10 (d, J = 8.3 Hz, 1H, ArH), 7.32 (d, J = 5.2 Hz, 1H, ArH), 7.67 – 7.75 (m, 2H, ArH), 8.02 (dd, J = 8.2, 2.1 Hz, 1H, ArH), 8.06 (d, J = 2.1 Hz, 1H, ArH), 8.47 (d, J = 5.2 Hz, 1H, ArH), 9.46 (s, 1H, NH), 9.76 (s, 1H, NH); $^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ (ppm) = 27.7, 30.2, 31.3, 31.9, 33.1, 65.3 (CH_2), 107.0, 114.4 (2C), 120.5 (2C), 121.6, 125.8, 128.3, 158.7 (CH), 132.6, 133.6, 133.9, 141.4, 153.1, 160.1, 162.9, 173.2 (C); $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{BrN}_4\text{O}_2$ (467.37); APCI-MS (ASAP, positiv): m/z (%) = 467 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (89).

7-{2-[(3-(3-Brompropoxy)phenyl)amino]pyrimidin-4-yl}-1,3,4,5-tetrahydro-2H-1-benzazepin-2-on (44b)



Nach AAV 6 aus 7-{2-[(3-Hydroxyphenyl)amino]pyrimidin-4-yl}-1,3,4,5-tetrahydro-2H-1-benzazepin-2-on (**30a**, 201 mg, 0.580 mmol), wasserfreiem Kaliumcarbonat (160 mg, 1.16 mmol) und 1,3-Dibrompropan (590 μ L, 5.79 mmol) in trockenem Aceton (7 mL). Es wurde 24 h zum Rückfluss erhitzt. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung mit Ethylacetat/Triethylamin (50:1) wurde ein gelber Feststoff erhalten (135 mg, 0.29 mmol, 50%).

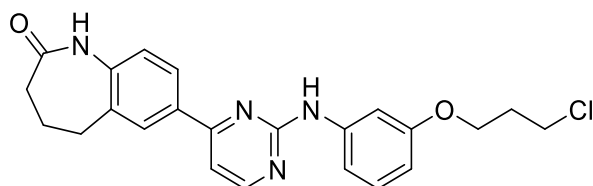
Schmp.: 182–185 °C; IR (KBr): 3283 und 3192 cm^{-1} (NH), 1667 cm^{-1} (C=O); ^1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 2.12 – 2.24 (m, 4H, 2 x CH_2), 2.27 (quint., J = 6.4 Hz, 2H, CH_2), 2.79 (t, J = 7.0 Hz, 2H, CH_2), 3.69 (t, J = 6.5 Hz, 2H, CH_2), 4.10 (t, J = 6.0 Hz, 2H, CH_2), 6.56 (ddd, J = 8.0, 2.5, 0.9 Hz, 1H, ArH), 7.11 (d, J = 8.3 Hz, 1H, ArH), 7.20 (t, J = 8.2 Hz, 1H, ArH), 7.30 – 7.37 (m, 1H, ArH), 7.40 (d, J = 5.2 Hz, 1H, ArH), 7.72 (t, J = 2.3 Hz, 1H, ArH), 8.05 (dd, J = 8.3, 2.1 Hz, 1H, ArH), 8.10 (d, J = 2.1 Hz, 1H, ArH), 8.54 (d, J = 5.3 Hz, 1H, ArH), 9.66 (s, 1H, NH), 9.78 (s, 1H, NH); ^{13}C -NMR (126 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 27.7, 30.2, 31.3, 31.9, 33.1, 65.0 (CH_2), 105.0, 107.0, 107.6, 111.4, 121.6, 125.8, 128.3, 129.2, 158.8 (CH), 132.5, 133.7, 141.5, 141.8, 158.6, 160.0, 163.0, 173.2 (C); $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{BrN}_4\text{O}_2$ (467.37); APCI-MS (ASAP, positiv): m/z (%) = 467 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ (10).

7-[2-((4-(3-Chlorpropoxy)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl]-1,3,4,5-tetrahydro-2H-1-benzazepin-2-on (45a)

Nach AAV 7 aus 7-{2-[(4-Hydroxyphenyl)amino]pyrimidin-4-yl}-1,3,4,5-tetrahydro-2H-1-benzazepin-2-on (**30e**, 51 mg, 0.15 mmol), Caesiumcarbonat (98 mg, 0.30 mmol) und 1-Brom-3-chlorpropan (73 μ L, 0.73 mmol) in Acetonitril (15 mL). Es wurde 4 h zum Rückfluss erhitzt. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung mit Ethylacetat wurde das Produkt als gelber Feststoff erhalten (30 mg, 0.071 mmol, 49%).

Schmp.: 223–226 °C; IR (KBr): 3274 und 3118 cm^{-1} (NH), 1672 cm^{-1} (C=O); ^1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 2.13 – 2.20 (m, 4H, 2 x CH_2), 2.20 – 2.26 (m, 2H, CH_2), 2.79 (t, J = 7.0 Hz, 2H, CH_2), 3.80 (t, J = 6.5 Hz, 2H, CH_2), 4.07 (t, J = 6.0 Hz, 2H, CH_2), 6.90 – 6.96 (m, 2H, ArH), 7.10 (d, J = 8.3 Hz, 1H, ArH), 7.32 (d, J = 5.3 Hz, 1H, ArH), 7.68 – 7.74 (m, 2H, ArH), 8.02 (dd, J = 8.3, 2.1 Hz, 1H, ArH), 8.06 (d, J = 2.1 Hz, 1H, ArH), 8.47 (d, J = 5.2 Hz, 1H, ArH), 9.46 (s, 1H, NH), 9.77 (s, 1H, NH); ^{13}C -NMR (151 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 27.8, 30.2, 31.7, 33.1, 42.0, 64.3 (CH_2), 107.0, 114.4 (2C), 120.5 (2C), 121.6, 125.8, 128.3, 158.7 (CH), 132.6, 133.7, 133.9, 141.4, 153.1, 160.2, 163.0, 173.2 (C); $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{ClN}_4\text{O}_2$ (422.91); APCI-MS (ASAP, positiv): m/z (%) = 423 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100).

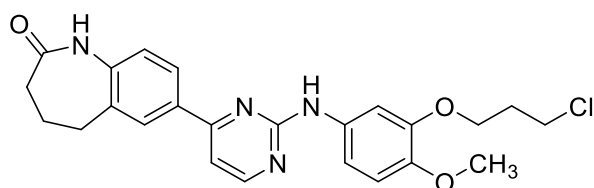
7-{2-[(3-(3-Chlorpropoxy)phenyl)amino]pyrimidin-4-yl}-1,3,4,5-tetrahydro-2H-1-benzazepin-2-on (45b)



Nach AAV 7 aus 7-{2-[(3-Hydroxyphenyl)amino]pyrimidin-4-yl}-1,3,4,5-tetrahydro-2H-1-benzazepin-2-on (**30a**, 199 mg, 0.574 mmol), Caesiumcarbonat (375 mg, 1.15 mmol) und 1-Brom-3-chlorpropan (289 μ L, 2.89 mmol) in Acetonitril (40 mL). Es wurde 2 h zum Rückfluss erhitzt. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung mit Ethylacetat/Dichlormethan/Triethylamin (3:1:0.1) wurde ein gelbes Pulver erhalten (60 mg, 0.14 mmol, 25%).

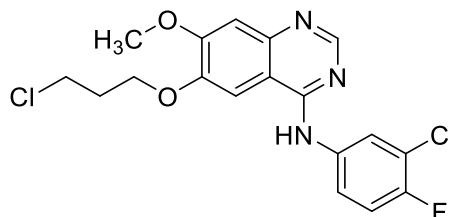
Schmp.: 183–185 °C; IR (KBr): 3435 cm^{-1} (NH), 1671 cm^{-1} (C=O); ^1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 2.13 – 2.25 (m, 6H, 3 x CH_2), 2.79 (t, J = 7.2 Hz, 2H, CH_2), 3.82 (t, J = 6.5 Hz, 2H, CH_2), 4.11 (t, J = 6.0 Hz, 2H, CH_2), 6.56 (ddd, J = 8.1, 2.5, 1.0 Hz, 1H, ArH), 7.11 (d, J = 8.3 Hz, 1H, ArH), 7.20 (t, J = 8.1 Hz, 1H, ArH), 7.32 (ddd, J = 8.3, 2.0, 0.94 Hz, 1H, ArH), 7.40 (d, J = 5.3 Hz, 1H, ArH), 7.72 (t, J = 2.3 Hz, 1H, ArH), 8.05 (dd, J = 8.2, 2.2 Hz, 1H, ArH), 8.10 (d, J = 2.1 Hz, 1H, ArH), 8.54 (d, J = 5.3 Hz, 1H, ArH), 9.66 (s, 1H, NH), 9.78 (s, 1H, NH); ^{13}C -NMR (126 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 27.7, 30.2, 31.7, 33.1, 42.0, 63.9 (CH_2), 105.0, 107.0, 107.6, 111.4, 121.6, 125.8, 128.3, 129.2, 158.6 (CH), 132.5, 133.7, 141.5, 141.8, 158.8, 160.0, 163.0, 173.2 (C); $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{ClN}_4\text{O}_2$ (422.91); APCI-MS (ASAP, positiv): m/z (%) = 423 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ (100).

7-{2-[(3-(3-Chlorpropoxy)-4-methoxyphenyl)amino]pyrimidin-4-yl}-1,3,4,5-tetrahydro-2H-1-benzazepin-2-on (45c)



Nach AAV 7 aus 7-{2-[(3-Hydroxy-4-methoxyphenyl)amino]pyrimidin-4-yl}-1,3,4,5-tetrahydro-2H-1-benzazepin-2-on (**30b**, 100 mg, 0.266 mmol), Caesiumcarbonat (173 mg, 0.531 mmol) und 1-Brom-3-chlorpropan (32 μ L 0.32 mmol) in Acetonitril (40 mL). Es wurde 4 h zum Rückfluss erhitzt. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung mit Ethylacetat wurde ein gelbes Pulver erhalten (27 mg, 0.060 mmol, 22%).

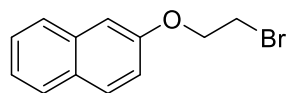
Schmp.: 180–182 °C; IR (KBr): 3419 und 3287 cm^{-1} (NH), 1670 cm^{-1} (C=O); $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ (ppm) = 2.12 – 2.25 (m, 6H, 3 x CH_2), 2.78 (t, J = 7.0 Hz, 2H, CH_2), 3.74 (s, 3H, CH_3), 3.82 (t, J = 6.4 Hz, 2H, CH_2), 4.10 (t, J = 6.0 Hz, 2H, CH_2), 6.94 (d, J = 8.8 Hz, 1H, ArH), 7.10 (d, J = 8.2 Hz, 1H, ArH), 7.30 (dd, J = 8.8, 2.4 Hz, 1H, ArH), 7.33 (d, J = 5.3 Hz, 1H, ArH), 7.66 (s, 1H, ArH), 8.04 (dd, J = 8.3, 2.1 Hz, 1H, ArH), 8.06 (d, J = 2.1 Hz, 1H, ArH), 8.49 (d, J = 5.1 Hz, 1H, ArH), 9.45 (s, 1H, NH), 9.77 (s, 1H, NH); $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ (ppm) = 56.0 (CH_3), 27.7, 30.2, 31.8, 33.1, 42.0, 65.0 (CH_2), 106.0, 107.1, 111.3, 112.7, 121.6, 125.8, 128.2, 158.8 (CH), 132.7, 133.7, 134.3, 141.4, 143.9, 147.5, 160.1, 162.9, 173.2 (C); $\text{C}_{24}\text{H}_{25}\text{ClN}_4\text{O}_3$ (452.94); APCI-MS (ASAP, positiv): m/z (%) = 453 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ (100).

N-(3-Chlor-4-fluorphenyl)-6-(3-chlorpropoxy)-7-methoxychinazolin-4-amin (48)

Nach AAV 7 aus einer Suspension von 4-[(3-Chlor-4-fluorphenyl)amino]-7-methoxychinazolin-6-ol (100 mg, 0.313 mmol), Caesiumcarbonat (204 mg, 0.626 mmol) und 1-Brom-3-chlorpropan (63 μ L, 0.63 mmol) in Acetonitril (25 mL). Es wurde 2 h zum Rückfluss erhitzt. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung mit Ethylacetat wurde ein farbloser Feststoff erhalten (50 mg, 0.13 mmol, 41%).

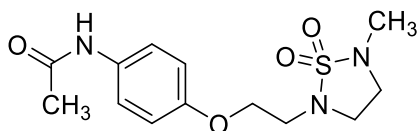
Schmp.: 174–175 °C (Lit.¹⁷⁸: 243–247 °C); IR (KBr): 3348 und 3135 cm^{-1} (NH), 1499 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 2.30 (quint., J = 6.1 Hz, 2H, CH_2), 3.86 (t, J = 6.4 Hz, 2H, CH_2), 3.95 (s, 3H, CH_3), 4.28 (t, J = 6.0 Hz, 2H, CH_2), 7.23 (s, 1H, ArH), 7.45 (t, J = 9.1 Hz, 1H, ArH), 7.80 (ddd, J = 9.0, 4.3, 2.6 Hz, 1H, ArH), 7.86 (s, 1H, ArH), 8.12 (dd, J = 6.9, 2.6 Hz, 1H, ArH), 8.51 (s, 1H, ArH), 9.57 (s, 1H, NH); $^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 55.9 (CH_3), 31.6, 42.0, 65.5 (CH_2), 102.7, 107.3, 116.5 (d, $^2J_{\text{C,F}}$ = 20.7 Hz, $\underline{\text{C-C-F}}$), 122.3 (d, $^3J_{\text{C,F}}$ = 6.6 Hz, $\underline{\text{C-C-C-F}}$), 123.5, 152.7 (CH), 108.6, 118.7 (d, $^2J_{\text{C,F}}$ = 19.8 Hz, $\underline{\text{C-C-F}}$), 136.7 (d, $^4J_{\text{C,F}}$ = 2.6 Hz, $\underline{\text{C-C-C-C-F}}$), 147.0, 148.0, 153.1 ($^1J_{\text{C,F}}$ = 243.1 Hz, $\underline{\text{C-F}}$), 154.4, 156.0 (C); $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{FN}_3\text{O}_2$ (396.24); CHN: ber. C 54.56, H 4.07, N 10.60, gef. C 54.77, H 3.86, N 10.32; APCI-MS (ASAP, positiv): m/z (%) = 396 [$\text{M}+\text{H}$]⁺ (100); HPLC-1 (isokratisch): 97.8% bei 254 nm, 96.6% bei 280 nm, $t_{\text{M+S}}$ = 4.87 min, t_{M} (DMSO) = 1.60 min (ACN/Puffer = 50:50); λ_{max} : 222, 253, 344 nm.

Für einen der beiden Kohlenstoffkerne im Abstand von drei Bindungen zum Fluoratom wurde keine $^3J_{\text{C,F}}$ -Kopplung beobachtet.

2-(2-Bromethoxy)naphthalin (49a)

Nach einer Vorschrift von ROSA *et al.*¹⁵² wurden 2-Naphthol (1.0 g, 6.9 mmol) und 1,2-Dibromethan (3.3 g, 17 mmol) in 1 M methanolischer Kaliumhydroxid-Lösung (8 mL) und Tetrahydrofuran (1 mL) gelöst. Anschließend erfolgte eine Mikrowellensynthese bei 90 °C (200 Watt, 290 psi, 10 min). Die Suspension wurde in gesättigter Natriumchloridlösung (20 mL) aufgenommen und mit Ethylacetat (20 mL) extrahiert. Anschließend wurde die organische Phase mit gesättigter Natriumchloridlösung (20 mL) gewaschen, über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und zur Trockne eingeeengt. Das Produkt wurde nach säulenchromatographischer Aufreinigung mit Ethylacetat/Hexan (1:5) als farbloser Feststoff erhalten (510 mg, 2.03 mmol, 29%).

Schmp.: 93–95 °C (Lit.¹⁷⁹: 98–99 °C) ; IR (KBr): 1258 cm⁻¹, 1188 cm⁻¹ ; ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 3.86 - 3.91 (m, 2H, CH₂), 4.42 – 4.47 (m, 2H, CH₂), 7.20 (dd, *J* = 8.9, 2.6 Hz, 1H, ArH), 7.33 – 7.39 (m, 2H, ArH), 7.44 - 7.51 (m, 1H, ArH), 7.78 – 7.87 (m, 3H, ArH); ¹³C-NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 31.3, 67.7 (CH₂), 107.0, 118.5, 123.7, 126.4, 126.7, 127.4, 129.3 (CH), 128.5, 134.1, 155.7 (C); C₁₂H₁₁BrO (251.12); APCI-MS (ASAP, positiv): *m/z* (%) = 252 [M+H]⁺ (23).

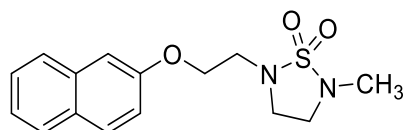
N-[4-(2-(5-Methyl-1,1-dioxo-1,2,5-thiadiazolidin-2-yl)ethoxy)phenyl]acetamid (50a)

Nach AAV 1 aus 2-Methyl-1,2,5-thiadiazolidin-1,1-dioxid (**34a**, 1.9 g, 14 mmol), Natriumhydrid (60%ige Suspension in Paraffinöl, 0.654 g, 17.0 mmol) und

N-[4-(2-Bromethoxy)phenyl]acetamid (**42a**, 150 mg, 0.581 mmol) in wasserfreiem *N,N*-Dimethylformamid (30 mL). Reaktionsdauer: 15 h bei Raumtemperatur. Das Produkt wurde aus Ethanol umkristallisiert und als farblose Kristalle erhalten (56 mg, 0.18 mmol, 31%).

Schmp.: 119–121 °C; IR (KBr): 3353 cm⁻¹ (NH), 1677 cm⁻¹ (C=O), 1511 cm⁻¹, 1146 cm⁻¹; ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 2.00 (s, 3H, CH₃), 2.61 (s, 3H, CH₃), 3.23 – 3.29 (m, 2H, CH₂), 3.32 (t, 2H, *J* = 5.3 Hz, CH₂), 3.38 – 3.45 (m, 2H, CH₂), 4.09 (t, 2H, *J* = 5.3 Hz, CH₂), 6.85 – 6.92 (m, 2H, ArH), 7.44 – 7.51 (m, 2H, ArH), 9.78 (s, 1H, NH); ¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 23.7, 33.3 (CH₃), 46.1, 46.7, 47.1, 66.0 (CH₂), 114.5 (2C), 120.4 (2C) (CH), 132.8, 153.7, 167.7 (C); C₁₃H₁₉N₃O₄S (313.37); CHN: ber. C 49.83, H 6.11, N 13.41 gef. C 49.97, H 6.07, N 13.19; APCI-MS (ASAP, positiv): *m/z* (%) = 314 [M+H]⁺ (100); HPLC-2 (isokratisch): 99.9% bei 254 nm und 100% bei 280 nm, *t*_{M+S} = 5.70 min, *t*_M (DMSO) = 1.20 min (ACN/Wasser = 20:80); HPLC-2 (Gradient): 99.4% bei 254 nm, *t*_{M+S} = 7.24 min, *t*_M (DMSO) = 1.17 min; λ_{max}: 247 nm.

2-Methyl-5-[2-(naphthalin-2-yl-oxy)ethyl]-1,2,5-thiadiazolidin-1,1-dioxid (**50b**)

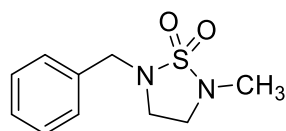


Nach AAV 1 aus 2-Methyl-1,2,5-thiadiazolidin-1,1-dioxid (**34a**, 2.16 g, 15.9 mmol), Natriumhydrid (60%ige Suspension in Paraffinöl, 0.761 g, 19.8 mmol) und 2-(2-Bromethoxy)naphthalin (**49a**, 100 mg, 0.398 mmol) in wasserfreiem *N,N*-Dimethylformamid (30 mL). Reaktionsdauer: 16 h bei Raumtemperatur. Das Produkt wurde via Säulenchromatographie mit Ethylacetat/Hexan (2:1) aufgereinigt und als farbloses Pulver erhalten (78 mg, 0.25 mmol, 64%).

Schmp.: 78–80 °C; IR (KBr): 1297 cm⁻¹, 1155 cm⁻¹; ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 2.62 (s, 3H, CH₃), 3.27 – 3.30 (m, 2H, CH₂), 3.42 (t, *J* = 5.3 Hz, 2H, CH₂), 3.45 – 3.50 (m, 2H, CH₂), 4.28 (t, *J* = 5.3 Hz, 2H, CH₂), 7.19 (dd, *J* = 9.0,

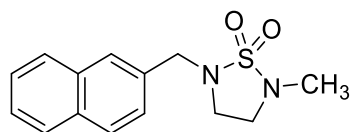
2.6 Hz, 1H, ArH), 7.36 (m, 2H, ArH), 7.47 (ddd, $J = 8.2, 6.9, 1.3$ Hz, 1H, ArH), 7.81 (dd, $J = 8.3, 1.1$ Hz, 1H, ArH), 7.84 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H, ArH); ^{13}C -NMR (126 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 33.4 (CH₃), 46.2, 46.7, 47.1, 65.9 (CH₂), 106.8, 118.6, 123.6, 126.4, 126.6, 127.5, 129.3 (CH), 128.5, 134.1, 155.9 (C); C₁₅H₁₈N₂O₃S (306.38); CHN: ber. C 58.80, H 5.92, N 9.14 gef. C 58.44, H 5.91, N 9.31; APCI-MS (ASAP, positiv): m/z (%) = 307 [M+H]⁺ (90); HPLC-2 (isokratisch): 98.8% bei 254 nm und 98.9% bei 280 nm, $t_{M+S} = 11.1$ min, t_M (DMSO) = 1.21 min (ACN/Wasser = 40:60); HPLC-2 (Gradient): 97.9% bei 254 nm, $t_{M+S} = 10.95$ min, t_M (DMSO) = 1.17 min; λ_{max} : 220, 272, 327 nm.

2-Benzyl-5-methyl-1,2,5-thiadiazolidin-1,1-dioxid (50c)



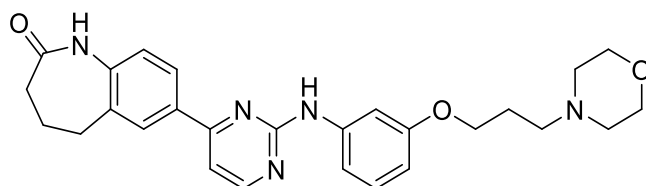
Nach AAV 1 aus 2-Methyl-1,2,5-thiadiazolidin-1,1-dioxid (**34a**, 0.936 g, 6.87 mmol), Natriumhydrid (60%ige Suspension in Paraffinöl, 0.329 g, 8.56 mmol) und Benzylbromid (1.41 g, 8.24 mmol) in wasserfreiem *N,N*-Dimethylformamid (15 mL). Reaktionsdauer: 15 h bei Raumtemperatur. Das Produkt wurde nach säulenchromatographischer Aufreinigung mit Ethylacetat/Hexan (1:2) als farbloses Öl erhalten (1.0 g, 4.4 mmol, 64%).

IR (KBr): 1304 cm⁻¹, 1156 cm⁻¹; ^1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 2.63 (s, 3H, -CH₃), 3.17 (ddd, $J = 7.0, 6.0, 0.9$ Hz, 2H, CH₂), 3.24 (ddd, $J = 6.8, 5.9, 0.9$ Hz, 2H, CH₂), 4.13 (s, 2H, CH₂), 7.28 – 7.41 (m, 5H, ArH); ^{13}C -NMR (151 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 33.5 (CH₃), 45.0, 47.0, 50.7 (CH₂), 127.7, 128.4 (2C), 128.5 (2C) (CH), 135.8 (C); C₁₀H₁₄N₂O₂S (226.29); CHN: ber. C 53.08, H 6.24 N 12.38, gef. C 53.14, H 6.21, N 12.37; APCI-MS (ASAP, positiv): m/z (%) = 227 [M+H]⁺ (82); HPLC-2 (isokratisch): 98.7% bei 254 nm, $t_{M+S} = 3.94$ min, t_M (DMSO) = 1.25 min (ACN/Wasser = 40:60); HPLC-2 (Gradient): 98.5% bei 254 nm, $t_{M+S} = 9.32$ min, t_M (DMSO) = 1.79 min; λ_{max} : 219, 258 nm.

2-Methyl-5-(naphthalin-2-yl-methyl)-1,2,5-thiadiazolidin-1,1-dioxid (**50d**)

Nach AAV 1 aus 2-Methyl-1,2,5-thiadiazolidin-1,1-dioxid (**34a**, 1.8 g, 13 mmol), Natriumhydrid (60%ige Suspension in Paraffinöl, 0.627 g, 16.3 mmol) und 2-(Brommethyl)naphthalin (3.5 g, 16 mmol) in wasserfreiem *N,N*-Dimethylformamid (15 mL). Reaktionsdauer: 15 h bei Raumtemperatur. Das Produkt wurde nach säulenchromatographischer Aufreinigung mit Ethylacetat/Hexan (1:2) als farbloser Feststoff erhalten (1.6 g, 5.8 mmol, 43%).

Schmp.: 107–110 °C; IR (KBr): 1296 cm⁻¹, 1156 cm⁻¹; ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 2.65 (s, 3H, CH₃), 3.21 – 3.28 (m, 4H, 2 x CH₂), 4.30 (s, 2H, CH₂), 7.43 – 7.57 (m, 4H, ArH), 7.87 – 7.94 (m, 3H, ArH); ¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 33.4 (CH₃), 45.1, 47.0, 50.9 (CH₂), 126.0, 126.3, 126.3, 127.0, 127.5, 127.6, 128.1 (CH), 132.4, 132.7, 133.4 (C); C₁₄H₁₆N₂O₂S (276.35); CHN: ber. C 60.85, H 5.84 N 10.14, gef. C 60.86, H 5.66, N 10.06; APCI-MS (TLC, positiv): *m/z* (%) = 277 [M+H]⁺ (97); HPLC-2 (isokratisch): 99.9% bei 254 nm und 100% bei 280 nm, *t*_{M+S} = 8.98 min, *t*_M (DMSO) = 1.21 min (ACN/Wasser = 60:40); HPLC-2 (Gradient): 99.3% bei 254 nm, *t*_{M+S} = 10.7 min, *t*_M (DMSO) = 1.22 min; λ_{max}: 220, 274 nm.

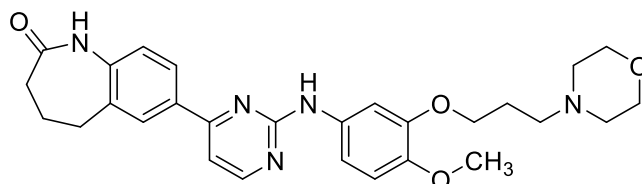
7-{2-[(3-(3-Morpholinopropoxy)phenyl)amino]pyrimidin-4-yl}-1,3,4,5-tetrahydro-2H-1-benzazepin-2-on (51)

In Anlehnung an die Vorschrift von BOSCHELLI *et al.*¹⁵⁵ wurden 7-{2-[(3-(3-Chlorpropoxy)phenyl)amino]-pyrimidin-4-yl}-1,3,4,5-tetrahydro-2H-1-benzazepin-2-on (**45b**, 52 mg, 0.12 mmol), Morpholin (1.0 mL, 12 mmol) und Natriumiodid (22 mg, 0.15 mmol) für 2.5 h bei 90 °C erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde der gelben Suspension Ethylacetat (10 mL) hinzugegeben und mit gesättigter Natriumchloridlösung (10 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel unter vermindertem Druck entfernt. Der gelbe Feststoff wurde zunächst säulenchromatographisch mit Ethylacetat/Ethanol/Triethylamin (50:20:1) und anschließend durch Umkristallisation aus Aceton aufgereinigt. Dabei wurde ein gelbes Pulver erhalten (15 mg, 0.032 mmol, 26%).

Schmp.: 169–172 °C; IR (KBr): 3430 und 3279 cm⁻¹ (NH), 1668 cm⁻¹ (C=O), 1581 cm⁻¹; ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 1.87 – 1.92 (m, 2H, CH₂), 2.08 – 2.29 (m, 6H, 3 x CH₂), 2.36 (s, 2H, CH₂), 2.43 (s, 2H, CH₂), 2.79 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH₂), 3.56 (s, 4H, 2 x CH₂), 4.02 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H, CH₂), 6.53 (ddd, *J* = 8.1, 2.5, 1.0 Hz, 1H, ArH), 7.10 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, ArH), 7.19 (t, *J* = 8.1 Hz, 1H, ArH), 7.29 – 7.35 (m, 1H, ArH), 7.39 (d, *J* = 5.1 Hz, 1H, ArH), 7.66 – 7.70 (m, 1H, ArH), 8.04 (dd, *J* = 8.2, 2.2 Hz, 1H, ArH), 8.10 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, ArH), 8.53 (d, *J* = 5.3 Hz, 1H, ArH), 9.64 (s, 1H, NH), 9.78 (s, 1H, NH); ¹³C-NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 25.9, 27.7, 30.2, 33.1, 53.3, 54.8, 65.5, 66.1 (CH₂), 105.0, 107.1, 107.6, 111.2, 121.5, 125.8, 128.3, 129.1, 158.8 (CH), 132.5, 133.7, 141.5, 141.8, 158.8, 160.0, 163.0, 173.2 (C); C₂₇H₃₁N₅O₃ (473.58); HRMS (ESI): *m/z* (C₂₇H₃₂N₅O₃, Monokation) ber. 474.24942, gef. 474.25051; APCI-MS (ASAP, positiv): *m/z* (%) = 474 [M+H]⁺ (8); HPLC-1 (isokratisch): 95.3% bei 254 nm und

97.3% bei 280 nm, t_{M+S} = 4.75 min, t_M (DMSO) = 1.60 min (ACN/Puffer = 25:75), λ_{max} : 275, 295 nm.

7-{2-[(4-Methoxy-3-(3-morpholinopropoxy)phenyl)amino]pyrimidin-4-yl}-1,3,4,5-tetrahydro-2H-1-benzazepin-2-on (52)



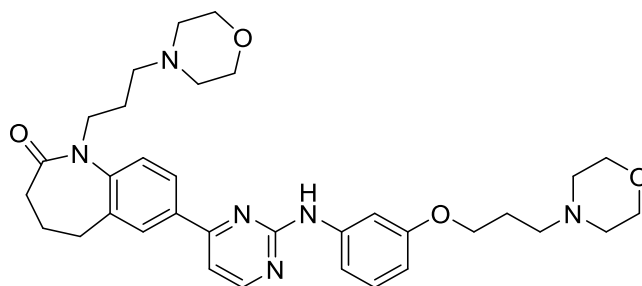
In Anlehnung an die Vorschrift von BOSCHELLI *et al.*¹⁵⁵ wurden 7-{2-[(3-(3-Chlorpropoxy)-4-methoxyphenyl)amino]-pyrimidin-4-yl}-1,3,4,5-tetrahydro-2H-1-benzazepin-2-on (**45c**, 79 mg, 0.17 mmol), Morpholin (1.0 mL, 0.12 mmol) und Natriumiodid (20 mg, 0.13 mmol) für 1.5 h bei 90 °C erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde der gelben Suspension Ethylacetat (10 mL) hinzugegeben und mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen (10 mL). Die organische Phase wurde über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel unter vermindertem Druck entfernt. Der gelbe Feststoff wurde zunächst säulenchromatographisch mit Ethylacetat/Ethanol/Triethylamin (50:20:1) und anschließend durch Umkristallisation aus Aceton aufgereinigt. Dabei wurde ein gelbes Pulver erhalten (20 mg, 0.040 mmol, 23%).

Schmp.: 175–179 °C; IR (KBr): 3426 und 3257 cm^{-1} (NH), 1671 cm^{-1} (C=O), 1574 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ (ppm) = 1.89 (quint., J = 6.6 Hz, 2H, CH_2), 2.12 – 2.23 (m, 4H, 2 x CH_2), 2.34 (s, 2H, CH_2), 2.42 (s, 2H, CH_2), 2.78 (t, J = 7.0 Hz, 2H, CH_2), 3.52 – 3.56 (m, 4H, 2 x CH_2), 3.73 (s, 3H, OCH_3), 4.02 (t, J = 6.5 Hz, 2H, CH_2), 6.91 (d, J = 8.8 Hz, 1H, ArH), 7.09 (d, J = 8.3 Hz, 1H, ArH), 7.27 (dd, J = 8.7, 2.4 Hz, 1H, ArH), 7.33 (d, J = 5.3 Hz, 1H, ArH), 7.62 – 7.65 (m, 1H, ArH), 8.03 (dd, J = 8.3, 2.1 Hz, 1H, ArH), 8.07 (d, J = 2.3 Hz, 1H, ArH), 8.48 (d, J = 5.3 Hz, 1H, ArH), 9.44 (s, 1H, NH), 9.78 (s, 1H, NH); $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ (ppm) = 55.9 (CH_3), 25.9, 27.7, 30.2, 33.1, 53.3, 54.9, 66.1 (2C), 66.4, 69.7 (CH_2), 105.8, 107.0, 110.9, 112.7, 121.5, 125.8, 128.2, 158.8 (CH), 132.7, 133.7, 134.3, 141.4, 143.9, 147.8, 160.1, 162.9, 173.2 (C); $\text{C}_{28}\text{H}_{33}\text{N}_5\text{O}_4$

(503.60); HRMS (ESI): m/z ($C_{28}H_{34}N_5O_4$, Monokation) ber. 504.26106, gef. 504.26034; APCI-MS (ASAP, positiv): m/z (%) = 504 $[M+H]^+$ (100); HPLC-1 (isokratisch): 99.6% bei 254 nm und 99.4% bei 280 nm, t_{M+S} = 2.38 min, t_M (DMSO) = 1.60 min (ACN/Puffer = 30:70), λ_{max} : 305 nm.

NMR-spektroskopisch fehlen 2 Protonen einer CH_2 -Gruppe im 1H -NMR.

7-{2-[(3-(3-Morpholinopropoxy)phenyl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-(3-morpholinopropyl)-1,3,4,5-tetrahydro-2H-1-benzazepin-2-on (54)



Nach einer modifizierten Vorschrift von KNESL *et al.*¹⁵⁶ wurde 7-{2-[(3-Hydroxyphenyl)amino]pyrimidin-4-yl}-1,3,4,5-tetrahydro-2H-1-benzazepin-2-on (**45b**, 150 mg, 0.433 mmol) in *N,N*-Dimethylformamid (8 mL) gelöst. Zu dieser Lösung wurde Kaliumcarbonat (299 mg, 2.16 mmol) hinzugegeben und für 20 min bei 40 °C erwärmt. Anschließend wurde 4-(3-Chlorpropyl)morpholinhydrochlorid (129 mg, 0.645 mmol) hinzugegeben und für 5 h bei 80 °C erwärmt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde Wasser (8 mL) hinzugegeben und mit Ethylacetat (4 x 20 mL) extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt, über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und zur Trockne eingeeengt. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung mit Ethylacetat/Methanol/Triethylamin (60:3:1) wurde ein farbloser Feststoff erhalten (20 mg, 0.033 mmol, 10%).

Schmp.: 135–141 °C; IR (KBr): 3273 cm^{-1} (NH), 1659 cm^{-1} (C=O), 1579 cm^{-1} ; 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 1.64 (s, 2H, CH_2), 1.90 (s, 2H, CH_2), 2.07 – 2.46 (m, 16H, 8x CH_2), 2.76 (t, J = 7.1 Hz, 2H, CH_2), 3.46 – 3.69 (m, 9H, 4 x CH_2), 3.88 (s, 2H, CH_2), 4.02 (t, J = 6.3 Hz, 2H, CH_2), 6.54 (dd, J = 8.3, 2.5 Hz, 1H, ArH), 7.19 (t, J = 8.1 Hz, 1H, ArH), 7.33 (d, J = 7.9 Hz, 1H, ArH), 7.44 (d, J = 5.3 Hz, 1H, ArH), 7.54 (d, J = 8.5 Hz, 1H, ArH), 7.66 (s, 1H, ArH), 8.11 (d, J =

2.3 Hz, 1H, ArH), 8.14 (dd, $J = 8.4, 2.2$ Hz, 1H, ArH), 8.56 (d, $J = 5.3$ Hz, 1H, ArH), 9.67 (s, 1H, NH); ^{13}C -NMR (151 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 18.5, 24.8, 25.9, 28.2, 28.9, 29.8, 32.9, 44.9, 53.0, 53.3, 54.8, 55.3, 55.9, 65.5, 66.1, 69.7 (CH_2), 105.1, 107.1, 107.8, 111.2, 123.1, 126.1, 127.8, 129.1, 158.8 (CH), 133.9, 135.7, 141.7, 144.5, 159.0, 160.0, 162.7, 171.5 (C); $\text{C}_{34}\text{H}_{44}\text{N}_6\text{O}_4$ (600.76); HRMS (EI): m/z $[\text{M}]^{+}$ ber. 600.34186, gef. 600.34008; ESI-MS (positiv): m/z (%) = 257 $[\text{M}-343]^{+}$ (100), 301 $[\text{M}-299]^{+}$ (46), 601 $[\text{M}+\text{H}]^{+}$ (19); HPLC-1 (isokratisch): 97.3% bei 254 nm und 98.4% bei 280 nm, $t_{\text{M}+\text{S}} = 5.55$ min, t_{M} (DMSO) = 1.60 min (ACN/Puffer = 20:80), λ_{max} : 284 nm.

9.4 Bestimmung physikochemischer und chemischer Eigenschaften

9.4.1 Vorhergesagte physikochemische Parameter

Die Vorhersage der clogP-Werte wurde mit dem Programm MarvinSketch (Version 17.2.20)¹⁵⁹ und mit dem Programm SILICOS-IT¹¹⁴ ermittelt. Ersteres beruht auf Grundlage der kombinierten Modelle nach VISWANADHAN *et al.*¹⁸⁰, KLOPMAN *et al.*¹⁸¹ und der PhysProp¹⁸² Datenbank. Die clogP-Werte nach SILICOS-IT¹¹⁴ und alle weiteren physikochemischen Parameter wurden mit dem Programm-Paket SwissADME¹¹⁴ bestimmt. Auch die clogS-Werte nach DELANEY *et al.*¹⁶³ (ESOL) und ALI *et al.*¹⁶⁴ wurden mit SwissADME¹¹⁴ vorhergesagt. Nach ALI *et al.*¹⁶⁴ wurde von insgesamt vier vorgestellten Modellen für die Löslichkeitsvorhersage das Modell drei verwendet. Die erhaltenden clogS-Werte wurden nach Gleichung 9-1 als cS-Werte in der Einheit $\mu\text{mol/L}$ berechnet.

$$cS [\mu\text{mol/L}] = 10^6 \times 10^{clogS} \quad (\text{Gleichung 9-1})$$

9.4.2 Kinetische Löslichkeit

Die Bestimmung der kinetischen Löslichkeit erfolgte mittels Nephelometrie. Zunächst wurden aus zwei voneinander unabhängigen Einwaagen in Eppendorf®-Vials je zwei Stammlösungen der Testsubstanzen in DMSO hergestellt. Daraus wurden jeweils zwei Verdünnungsreihen mit acht bis zehn verschiedenen Konzentrationen mit DMSO erstellt. In eine 96 well-Platte (Corning™ UV-transparente flat-bottom-Mikrotiterplatte; Fa. Corning Incorporated, Kennebunk, ME, USA) wurden die entsprechenden Verdünnungen pipettiert (2 μL) und mit

einer Phosphatpuffer-Lösung pH 7.4 (198 µL) versetzt, sodass die DMSO-Konzentration in den vermessenen Lösungen 1% betrug. Parallel wurden die Blindwerte ermittelt und von den Messwerten der Testverbindungen abgezogen. Hierfür wurden drei *wells* mit DMSO-Phosphatpuffer pH 7.4 (2:198) befüllt und als Blindwerte vermessen. Die so präparierte 96 *well*-Platte wurde mit dem Nephelometer NEPHELOstar® PLUS (Software: Omega 5.11) bei einer Temperatur von 25 °C vermessen. Zuvor wurde die Platte für 10 s mit 500 rpm geschüttelt und die Laserintensität wurde auf 80% eingestellt. Die Strahlenbündelung wurde auf 2.50 mm eingestellt. Wenn die Testsubstanz vollständig löslich ist, wird nur eine dem Blindwert nahezu entsprechende Streuung detektiert. Sobald eine kritische Konzentration erreicht ist, in welcher die kinetische Löslichkeit der Testverbindung überschritten ist, fallen Feststoffpartikel aus. Durch ungelöste Partikel in der Probe wird der Laserstrahl gestreut und die Intensität des Streulichts detektiert, welche sich proportional zur Anzahl der Partikel in der Lösung verhält. Durch die Messung von verschiedenen Konzentrationen der Testsubstanzen konnten verschiedene Intensitäten des Streulichtes, angegeben als RNU (*relative nephelometric unit*), ermittelt werden. Die Konzentrationen wurden gegen die RNU-Werte aufgetragen. Es wurden *kick off*-Kurven erhalten. Die Geraden werden jeweils durch den horizontalen und den vertikalen Anteil der *kick off*-Kurve gelegt. Vom Schnittpunkt wird das Lot auf die Abszisse gefällt und dort die kinetische Löslichkeit abgelesen (Microsoft Excel 2013).

9.4.3 Thermodynamische Löslichkeit

Die Bestimmung der thermodynamischen Löslichkeit erfolgte mittels isokratischer HPLC-DAD, wobei eine im Arbeitskreis entwickelte *shake flask* Methode angewendet wurde. Zunächst wurde die Testsubstanz in ein Whatman Mini-UniPrep® Vial (GE Healthcare, Freiburg, Deutschland) überführt und mit 300 µL Phosphatpuffer-Lösung pH 7.4 versetzt. Der verwendete Phosphatpuffer pH 7.4 (natriumchloridhaltig, Ph. Eur. 9. Ausgabe, Nachtrag 9.8) enthielt 6.65 mM Natriummonohydrogenphosphat-Dodecahydrat, 1.40 mM Kaliumdihydrogenphosphat und 137 mM Natriumchlorid in bidest. Wasser. Die Einstellung des pH-Werts erfolgte mit 1 M Natriumhydroxid- oder 1 M Salzsäurelösung.

Die Substanzmenge wurde so gewählt, dass noch Bodensatz vorhanden war (etwa 500 µg). Die Vials wurden locker mit dem Filteraufsatz verschlossen und mit Parafilm® (Parafilm M, Bemis Flexible Packaging, Neenah, WI, USA) umwickelt, um die Verdunstung des Lösungsmittels zu minimieren. Die so präparierten Proben wurden für 24 h und 48 h bei 25 °C und 400 rpm im Schüttelinkubator IKA® KS 3000 ic control inkubiert. Anschließend wurden die Proben filtriert und mittels isokratischer HPLC-DAD mit den in den jeweiligen Synthesevorschriften angegebenen ACN-Wasser-Gemischen bzw. ACN/Puffer-Gemischen im jeweiligen Absorptionsmaximum vermessen. Die Bestimmung der thermodynamischen Löslichkeit erfolgte über eine Kalibriergerade der jeweiligen Probe. Aus einer 10 mM Stammlösung in DMSO wurden drei unterschiedlich konzentrierte Kalibrierlösungen erstellt. Die Verdünnung erfolgte mit DMSO. Anschließend wurden die Kalibrierlösungen mit dem isokratischen HPLC-DAD Verfahren vermessen und die jeweilige AUC gegen die Konzentration aufgetragen. Aus der Kalibriergeraden wurde die Konzentration abgelesen, die der ermittelten AUC der Probe entspricht. Diese Konzentration entspricht der thermodynamischen Löslichkeit. Bei fehlender Absorption wird für diese Verbindungen eine thermodynamische Löslichkeit unterhalb der kleinsten Konzentration angegeben, die bei der Erstellung der Kalibriergerade der jeweiligen Verbindung eingesetzt wurde und mittels HPLC-DAD detektierbar war.

9.4.4 Acidität von Sulfamiden

Es wurde eine pH-Titrationskurve von Morpholin-4-sulfonamid (**34b**) erstellt. Ausgehend von einer 0.1 M wässrigen Lösung von **34b** (10 mL) wurde zunächst 1 mL einer 0.1 M Salzsäure zugegeben. Dadurch sollte eine vollständige Protonierung von **34b** gewährleistet werden. Anschließend wurde mit 0.1 M Natriumhydroxidlösung titriert, wobei bei jedem Zusatz der pH-Wert mit einem pH-Meter mit einer Glaselektrode als Indikatorelektrode gemessen wurde. Die Titrationskurve wurde durch Auftragung des jeweiligen pH-Werts (y-Achse) gegen das zugesetzte Volumen an Natriumhydroxidlösung (mL, x-Achse) ermittelt.

9.5 Proteinkinaseassays

Die Bestimmung der Kinaseaktivität der 2-Anilinopyrimidine erfolgte an Aurora-A, Aurora-B, CDK/CycB1, CDK2/CycE1, CDK9/CycT1 und PLK1 (engl. *polo-like kinase 1*), wohingegen die Kinaseaktivität der Anilinochinazoline an ABL1 wt, CDK8/CycC, EGFR wt und VEGFR-2 bestimmt wurde (Tabellen 9-2, 9-3 und 9-4). Die verwendeten Proteinkinasen wurden in Sf9 Insektenzellen oder *E. coli* ausgehend von einer humanen cDNA gewonnen. In Sf9 und *E. coli* erfolgte die Expression als rekombinante GST-Fusionsproteine oder als Polyhistidin-markierte Proteine. Die Aufreinigung der Proteine, deren Identität durch Massenspektrometrie bestimmt wurde, wurde mit einer Affinitätschromatographie an GSH oder an immobilisierten Metallen durchgeführt. Die Reinheit der exprimierten Proteine wurde durch eine SDS-PAGE unter Verwendung einer Coomassie-Färbung überprüft. Die Messung der kinaseinhibitorischen Aktivitäten wurde durch die Firma ProQinase GmbH in Freiburg durchgeführt. Hierbei wurde ein ³³PanQuinase® *Activity Assay*, welcher einen radiometrischen Proteinkinaseassay darstellt, angewendet. Dabei wurde radioaktiv markiertes [γ -³³P]-ATP verwendet und die Übertragung eines [γ -³³P] auf das Substrat radiometrisch mittels Szintillationszähler vermessen. Zur verwendeten Pufferlösung, bestehend aus 70 mM HEPES-NaOH pH 7.5, 3 mM MgCl₂, 3 mM MnCl₂, 3 μ L Natrium-orthovanadat, 1.2 mM DTT und 50 μ g/mL PEG₂₀₀₀₀, wurde eine ATP-Lösung (0.3–1.0 μ M), in der die Testverbindung in 10% DMSO gelöst vorlag, hinzugegeben. Als Substrate wurden rekombinante Proteine wie RBER-CHKtide oder tetra(LRRWSLG) verwendet (Tabelle 9-1). Nach Zugabe des Enzym-Substrat-Gemisches in die o.g. Puffer/ATP-Lösung wurde für 60 Minuten bei 30 °C inkubiert. Zusammenfassend besteht das Reaktionsgemisch aus 20 μ L Pufferlösung, 5 μ L ATP-Lösung (in H₂O), 5 μ L Probelösung und 20 μ L einer Mischung aus je 10 μ L Substrat- und Enzymlösung. Durch Zugabe von 50 μ L einer 2% (V/V) H₃PO₄-Lösung wurde die Reaktion gestoppt. Verwendet wurde eine 96 well-Platte (PerkinElmer, Boston, MA, USA). Das Reaktionsgemisch wurde zweimal mit 200 μ L 0.9% (w/V) Natriumchloridlösung gewaschen und anschließend die Radioaktivität, des in die Substrate eingebauten [γ -³³P]-Phosphats durch Verwendung eines BeckmanCoulter/SAGIAN™ Core Systems ermittelt.

Tabelle 9-1: Verwendete Proteinkinasen (Enzym- und Substratkonzentration pro *well*).

Proteinkinase	c (Kinase) [ng/50 µL]	Substrat	c (Substrat) [ng/50 µL]
Aurora-A	50	tetra(LRRWSLG)	0.5
Aurora-B	150	tetra(LRRWSLG)	0.25
CDK1/CycB1	50	RB ER-CHKtide	2
CDK2/CycE1	10	RB ER-CHKtide	1
CDK9/CycT1	25	RB ER-CHKtide	1
PLK1	15	RB ER-CHKtide	2
ABL1 wt	5	Poly(Ala,Glu,Lys,Tyr)6:2:5:1	0.125
CDK8/CycC	50	RB ER-IRStide	1.000
EGFR wt	5	Poly(Glu,Tyr)4:1	0.125
VEGFR-2	25	Poly(Glu,Tyr)4:1	0.125

Durch die Linearität zwischen der gemessenen Radioaktivität und des eingebauten [γ - ^{33}P]-Phosphats kann die Kinaseaktivität ermittelt werden. Hierbei wurde zusätzlich ein *low control* und *high control* vermessen. Bei der *low control* wird die Radioaktivität des Substrates ohne Enzym ermittelt, wodurch eine unspezifische Interaktion des [γ - ^{33}P]-ATP mit der Platte ausgeschlossen wird. Die *high control* stellt die vollständige Aktivität des Enzyms ohne Inhibitor dar. Durch Subtraktion der Radioaktivität der *low control* von der *high control* wird eine Kinaseaktivität von 100% ermittelt. Für die Verbindungen wurden die Restaktivitäten (Gleichung 9-2) und die IC_{50} -Werte mittels Quattro Workflow V3.1.1 (Quattro Research GmbH, München) ermittelt.

$$\text{Restaktivität (\%)} = 100 \times \frac{\text{Testverbindung} - \text{low control}}{\text{high control} - \text{low control}} \quad (\text{Gleichung 9-2})$$

Weiterhin wurde der Z'-Faktor nach ZHANG *et al.*¹⁸³ bestimmt, der als Qualitätsparameter für die durchgeführten Assays herangezogen wird. Berechnet wurde dieser für den *low control* und *high control*. Der von ProKinase angestrebte Z'-Faktor von größer als 0.4 wurden bei allen durchgeführten Tests erreicht. Dies ist ein Beleg für die sehr gute Assayqualität.

Tabelle 9-2: Proteinkinase-inhibitorische Aktivität der Modellsubstanzen mit NeuSIG (**50a-b**) unter Angabe der IC₅₀-Werte (μM, Einfachbestimmung).

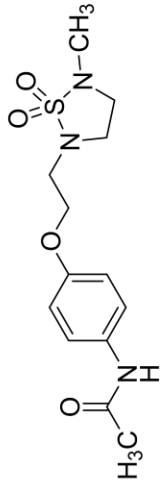
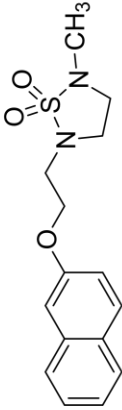
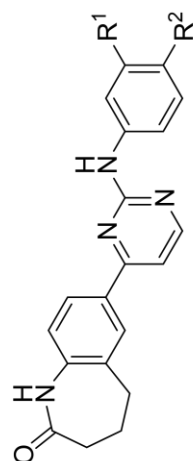
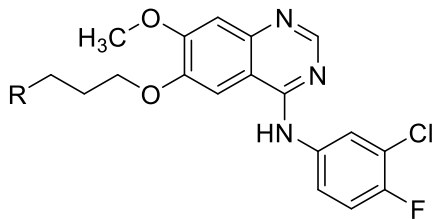
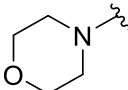
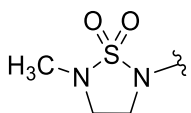
Verbindung	Aurora-Kinase A	Aurora-Kinase B	CDK1/CycB1	CDK2/CycE1	CDK9/CycT1	PLK1
50 	>10	>10	>10	>10	>10	>10
50b 	>10	>10	>10	>10	>10	>10

Tabelle 9-3: Proteinkinase-inhibitorische Aktivitäten der Anilinopyrimidine **30a**, **30c** und **30e** und der mit einem cyclischen Sulfamid verknüpften Verbindungen **31a** und **31d** unter Angabe der IC₅₀-Werte (μM, Einfachbestimmung).



	R ¹	R ²	Aurora-Kinase A	Aurora-Kinase B	CDK1/CycB1	CDK2/CycE1	CDK9/CycT1	PLK1
30a	H	OH	2.9	2.7	>10	2.3	2.5	>10
30c	H	H	3.6	7.1	>10	>10	7.0	>10
30e	OH	H	3.5	4.9	>10	3.5	2.0	>10
31a		H	1.8	5.5	>10	>10	>10	>10
31d	H		3.0	9.7	>10	>10	9.4	>10

Tabelle 9-4: Inhibitorische Aktivität von Gefitinib (**7a**) und dem NeuSIG enthaltenden Anilinochinazolin **7b** gegenüber 16 EGFR-Mutanten unter Angabe der IC₅₀-Werte (nM).

	R	
	 7a	 7b
EGFR	0.657	1.37
EGFR C797S	1.73	5.63
EGFR C797S/L858R	0.489	1.49
EGFR d746-750 T790M/C797S	>300	>300
EGFR d746-750 T790M/C797S/L858R	>300	>300
EGFR d746-750	1.77	3.83
EGFR d747-749/A750P	5.08	2.39
EGFR d747-752/P753S	0.911	2.44
EGFR d752-759	0.290	1.79
EGFR G719S	1.72	4.72
EGFR L718Q	>300	176
EGFR L858R	1.93	2.19
EGFR L861Q	0.880	1.02
EGFR T790M	>300	273
EGFR T790M/C797S/L858R	>300	>300
EGFR T790M/L858R	>300	>300

9.6 Zytotoxizitätsassays

Die Bestimmung der zytotoxischen Eigenschaften der Anilinochinazoline **7a–h** gegenüber vier humanen Krebszelllinien und einer gesunden immortalisierten Zelllinie (CLS Cell Lines Service GmbH, Eppelheim, Deutschland) erfolgte unter Anwendung eines Kristallviolett-Assays im Arbeitskreis von Prof. Dr. Ingo Ott (Braunschweig, Deutschland). Folgende Zelllinien wurden verwendet: humane kolorektale Adenokarzinomzelllinie (HT-29), zwei Mammakarzinomzelllinien (MCF-7 und MDA-MB-231), humane Adenokarzinomzelllinie der Leber (SK-HEP-1) und eine gesunde immortalisierte humane Nierenzelllinie (RC-124).

Die humanen Krebszelllinien wurden in einem mit Gentamycin (50 µg/mL) und fetalem Kälberserum (10% v/v; FCS superior, Biochrom GmbH, Berlin, Deutschland) ergänzten Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM; 4500 µg/mL D-Glucose, L-Glutamin und Pyruvat) kultiviert. Für die RC-124 Zelllinie wurde statt dem DMEM ein McCoy's 5A Medium (zusätzlich L-Glutamin) verwendet, wobei jedoch die Zusätze an Gentamycin und FCS unverändert blieben. Die Passage aller Zelllinien erfolgte einmal wöchentlich.

Zur Bestimmung der antiproliferativen Eigenschaften wurden zunächst die jeweiligen Suspensionen der verwendeten Zelllinien mit entsprechendem Medium verdünnt und in eine 96 *well*-Platte (100 µL/*well*; TPP® *Tissue Culture Plates* mit F-Boden, TPP Techno Plastic Products AG, Trasadingen, Schweiz) überführt. Lediglich für die RC-124 Zelllinie wurde die 96 *well*-Platte mit Gelatinelösung (30 µL; 1.5% (m/V)) vorbehandelt. Die präparierte 96 *well*-Platte wurde für 1 h bei 37 °C inkubiert, abgesaugt und mit natriumchloridhaltigem Phosphatpuffer pH 7.4 (Ph. Eur. 9. Ausgabe, Nachtrag 9.8) gewaschen. Anschließend wurde die Zellzahl der jeweiligen Zellliniensuspensionen mit einer Zählkammer nach Neubauer bestimmt (HT-29-Zellen: etwa 1390 Zellen/µL; MCF-7-Zellen: etwa 800 Zellen/µL; MDA-MB-231-Zellen: etwa 910 Zellen/µL; SK-HEP-1: etwa 1090 Zellen/µL). Die zellsuspensionshaltigen 96 *well*-Platten wurden nun bei 37°C/5% CO₂ für 48 h (HT-29 und SK-HEP-1) bzw. 72 h (MCF-7, MDA-MB-231 und RC-124) inkubiert. Parallel wurde aus einer Stammlösung (100 mM) der Verbindungen **7a–h** in DMF oder DMSO eine Verdünnungsreihe mit entsprechendem Lösungsmittel in unterschiedlichen Konzentrationen (zum Beispiel 50 mM, 10 mM oder 0.2 mM) hergestellt. Die Verdünnungen wurden anschließend mit dem verwendeten

Zellkulturmedium versetzt, sodass die Konzentration der Lösungsmittel DMF und DMSO 0.1% pro well (V/V) betrug. Nach der Inkubation der zellsuspensionshaltigen 96 well-Platten wurden die entsprechenden Medien über den Zellen abgesaugt und mit testsubstanzhaltigen Medien (200 µL/well) versetzt. Nach einer Expositionszeit von 72 h (HT-29 und SK-HEP-1) bzw. 96 h (MCF-7, MDA-MB-231 und RC-124) im Inkubator bei 37°C/5% CO₂ wurde das testsubstanzhaltige Medium abgesaugt. Die noch lebenden Zellen wurden mit Glutaraldehydlösung (100 µL einer mit PBS verdünnten 25% Glutaraldehydlösung) fixiert und nach 30-minütiger Einwirkzeit abgeklopft. Danach wurden die Zellen mit PBS (180 µL) gewaschen und erneut abgeklopft. Die noch vorhandene Biomasse wurde mit 0.2%iger Kristallviolettlösung (100 µL) versetzt und nach einer Einwirkzeit von 30 min ausgeschüttet. Anschließend wurde zweimal mit Wasser gewaschen und für 15 min mit Wasser überschichtet. Nach Ausschütten des Wassers wurde Ethanol 70% (180 µL) hinzugegeben und für 2-3 Stunden bei Raumtemperatur geschüttelt (Vortex-Genie 2, Scientific Industries, Inc., Bohemia, NY, USA). Der Zusatz von Ethanol bewirkt ein Herauslösen des in den Zellen vorhandenen und in Kristallviolett eingelagerten Chromatins. Anschließend wurde die Absorption des in den Zellen gebundenen Kristallvioletts, die sich proportional zur verbleibenden Zellmasse verhält, bei 590 nm gemessen (Multilabel Reader, Victor x4, PerkinElmer, Boston, MA, USA). Für jede Konzentration wurde nach der Gleichung 9-3 die Konzentration der vorhandenen Biomasse im Vergleich zur Kontrolle (T/C_{kor}) bestimmt. IC₅₀-Werte wurden angegeben, falls die Biomasse um 50% halbiert wurde. Dabei wurde T/C_{kor} gegen die jeweilige Konzentration aufgetragen.¹⁶¹

$$\frac{T}{C_{\text{kor}}} [\%] = 100 \times \frac{B - t_0}{K - t_0} \quad (\text{Gleichung 9-3})$$

B Absorption nach Inkubation der jeweiligen Konzentration

t_0 Absorption zu Beginn des Assays (ohne Testsubstanz)

K Absorption der Kontrolle (Lösemittelkontrolllösung)

(Mittelwert für jeden Parameter der Gleichung 9-3 aus der sechsfachen Messung der jeweiligen Konzentration)

10 Verzeichnisse

10.1 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1-1: Angabe der clogP-Werte für EGFR-Inhibitoren mit Hilfe der SILICOS-IT-Vorhersage nach SwissADME	28
Tabelle 3-1: Reaktionsdauer und Ausbeuten bei der Synthese <i>N</i> -alkylierter Sulfamide 34b–h	55
Tabelle 3-2: Variation der Reaktionsbedingungen der in Schema 3-8: v) gezeigten Williamsonschen Ethersynthese mit 30e	60
Tabelle 3-3: Ausbeuten der mit einem cyclischen Sulfamid substituierten Modellsubstanzen 50a–d	62
Tabelle 3-4: Ausbeuten der NeuSIG enthaltenden 2-Anilinopyrimidine 31b und 31f–i	66
Tabelle 3-5: Ausbeuten der NeuSIG enthaltenden Anilinochinazoline 7b–i	71
Tabelle 5-1: Proteinkinase-inhibitorische Aktivitäten der Anilinopyrimidine 30a , 30c und 30e und der mit einem cyclischen Sulfamid verknüpften Verbindungen 31a und 31d unter Angabe der IC ₅₀ -Werte (μM, Einfachbestimmung).....	81
Tabelle 5-2: Inhibitorische Aktivität der Anilinopyrimidine 31b–c , 31f–i , 51 und 52 gegenüber der Aurora-Kinase A unter Angabe der IC ₅₀ -Werte (μM, Einfachbestimmung)	82
Tabelle 5-3: Proteinkinase-inhibitorische Aktivität der Anilinochinazoline Gefitinib (7a) und 7b–h unter Angabe der IC ₅₀ -Werte (Einfachbestimmung)	85
Tabelle 5-4: Ergebnisse der Zytotoxizitätsuntersuchungen der Anilinochinazoline Gefitinib (7a) und 7–h unter Angabe der IC ₅₀ -Werte (μM).....	89
Tabelle 6-1: Mit SwissADME ermittelte bzw. vorhergesagte physikochemische Eigenschaften der Anilinopyrimidine 30a–c , 31a–c , 31e–i und 51–52	93
Tabelle 6-2: Mit SwissADME ermittelte bzw. vorhergesagte physikochemische Eigenschaften der Anilinochinazoline 7a–i	95
Tabelle 6-3: LLE- und LE-Werte für einige an der Aurora-Kinase A aktiven Anilinopyrimidine 30a , 30c , 30e , 31a und 31d	97

Tabelle 6-4: LLE- und LE-Werte der EGFR-inhibitorischen Anilinochinazoline 7a–h	99
Tabelle 6-5: Vorhergesagte Löslichkeiten der Anilinopyrimidine 30a–c , 31a–c , 31e–i und 51–52	102
Tabelle 6-6: Vorhergesagte Löslichkeiten der Anilinochinazoline 7a–i	106
Tabelle 6-7: Mittels <i>shake flask</i> Methode bestimmte thermodynamische und vorhergesagte Löslichkeit ausgewählter Anilinopyrimidine und Anilinochinazoline bei physiologischem pH-Wert.....	109
Tabelle 6-8: Vorhergesagte und experimentell bestimmte kinetische Löslichkeit der Anilinopyrimidine 30a–c , 31a–c , 31e–i , 51 und 52 bei pH 7.4	112
Tabelle 6-9: Vorhergesagte und experimentell bestimmte kinetische Löslichkeit bei pH 7.4 der Anilinochinazoline 7a–i	114
Tabelle 9-1: Verwendete Proteinkinasen (Enzym- und Substratkonzentration pro well)	183
Tabelle 9-2: Proteinkinase-inhibitorische Aktivität der Modellsubstanzen mit NeuSIG (50a–b) unter Angabe der IC ₅₀ -Werte (µM, Einfachbestimmung)	184
Tabelle 9-3: Proteinkinase-inhibitorische Aktivitäten der Anilinopyrimidine 30a , 30c und 30e und der mit einem cyclischen Sulfamid verknüpften Verbindungen 31a und 31d unter Angabe der IC ₅₀ -Werte (µM, Einfachbestimmung)	185
Tabelle 9-4: Inhibitorische Aktivität von Gefitinib (7a) und dem NeuSIG enthaltenden Anilinochinazolin 7b gegenüber 16 EGFR-Mutanten unter Angabe der IC ₅₀ -Werte (nM).....	185

10.2 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1-1: Schematische Darstellung der Entwicklung eines Arzneistoffs modifiziert nach HUGHES	2
Abbildung 1-2: BCS	6
Abbildung 1-3: Kennzeichnung von sauren Strukturelementen in potentiellen Wirkstoffen (1–3) in Rot	13

Abbildung 1-4: Verbesserung der Löslichkeit durch Einführung einer Carboxylgruppe (hervorgehoben in Rot) in 5	14
Abbildung 1-5: Kennzeichnung von basischen Strukturelementen (rot) in zugelassenen smKI.....	15
Abbildung 1-6: Beispiele für den Einbau von neutralen Strukturelementen (rot) in den Verbindungen 9–13 , die zu einer Löslichkeitsverbesserung führen	17
Abbildung 1-7: Das Sulfamid (14) kann unterschiedliche Substituenten (R) wie Wasserstoffatome oder Alkylgruppen am Stickstoffatom tragen	18
Abbildung 1-8: Aufbau der Aurora-Kinase A: Kokristallstruktur der Aurora-Kinase A mit ADP, zwei Magnesiumkationen (grün), Wassermolekülen (rot) und der Kennzeichnung charakteristischer Bereiche (PDB: 1MQ4).....	20
Abbildung 1-9: Die <i>hinge</i> -Region der Aurora-Kinase A (PDB: 1MQ4).....	22
Abbildung 1-10: Eine Auswahl an Inhibitoren der Aurora-Kinasen (20–26), die sich in klinischen Studien befinden	24
Abbildung 1-11: EGFR-Inhibitoren unterschiedlicher Generationen.....	26
Abbildung 1-12: Einbau von Sulfamidpartialstrukturen (14 , mit R = Wasserstoffatome oder Alkylgruppen) in das Anilinochinazolin 7a und in die Anilinopyrimidine 30a–b	29
Abbildung 1-13: Vorgehensweise zur Verbesserung der physikochemischen Eigenschaften von Proteinkinase-Inhibitoren durch Einbau von NeuSIGs.....	30
Abbildung 2-1: ATP-Bindetasche der Kokristallstruktur von MLN8054 (21 , grün) mit der Aurora-Kinase A (PDB: 2WTV, aquamarin)	34
Abbildung 2-2: Kokristallstruktur von Danusertib (22 , khaki) in der ATP-Bindetasche der Aurora-Kinase A (PDB: 2J50, aquamarin).....	35
Abbildung 2-3: Farbliche (rosa) Hervorhebung der Anilinopyrimidinpartialstrukturen von MLN8054 (21) und 30c–d	36
Abbildung 2-4: Kokristallstruktur von 21 (grün) und gedocktem 21 (lila) in der ATP-Bindetasche der Aurora-Kinase A (PDB: 2WTV, aquamarin)	37

Abbildung 2-5: Zwei unterschiedliche durch <i>docking</i> -Experimente vorhergesagte Bindemodi von 30a (sandbraun) in der ATP-Bindetasche der Aurora-Kinase A (PDB: 2WTV, aquamarin).....	39
Abbildung 2-6: Nicht publizierte Kokristallstrukturen von 30c und 30d (sandbraun) in der Aurora-Kinase A (aquamarin)	41
Abbildung 2-7: <i>Redocking</i> -Ergebnisse der 2-Anilinopyrimidine (30c und 30d) in zwei nicht publizierten Kokristallstrukturen der Aurora-Kinase A (aquamarin) ...	42
Abbildung 2-8: Zwei <i>docking</i> -Posen von 31a (sandbraun) in der ATP-Bindetasche der Aurora-Kinase A (nicht publizierte Kokristallstruktur, aquamarin), jeweils ohne <i>constraints</i> erzeugt	44
Abbildung 2-9: <i>Docking</i> -Ergebnis von 31b (sandbraun) in der ATP-Bindetasche der Aurora-Kinase A (nicht publizierte Kokristallstruktur, aquamarin)	45
Abbildung 2-10: Kokristallstrukturen von EGFR-Inhibitoren der ersten, zweiten und dritten Generation.....	48
Abbildung 2-11: <i>Redocking</i> -Ergebnis von Gefitinib (7a) in der ATP-Bindetasche von EGFR (PDB: 4l22, grau).....	49
Abbildung 2-12: <i>Docking</i> -Ergebnis von 7b (rotgold, <i>ChemScore</i> = 39.08) in der ATP-Bindetasche von EGFR (PDB: 4l22, grau).....	50
Abbildung 2-13: <i>Docking</i> -Ergebnis von 7c (rotgold, <i>ChemScore</i> = 50.36) in der ATP-Bindetasche der EGFR (PDB: 4l22, grau)	51
Abbildung 3-1: Massenspektrum der Verbindung 34a ($m/z = 137$ $[M+H]^+$, gelbliches Öl) im positiven Modus der ASAP-MS (APCI-Quelle).....	53
Abbildung 3-2: Darstellung der 2-Anilinopyrimidine 30a–b und 30e , welche den Ausgangspunkt für weitere Derivatisierungsreaktionen bildeten	56
Abbildung 3-3: ^1H -NMR-Spektrum (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) von 2-Benzyl-5-methyl-1,2,5-thiadiazolidin-1,1-dioxid (50c)	63
Abbildung 3-4: Ausschnitt aus dem ^1H -NMR-Spektrum (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) der Verbindung 50c	64
Abbildung 3-5: Ausschnitt aus dem ^1H - ^{15}N -HMBC-Spektrum der Verbindung 54 (Bezifferung nicht nach IUPAC)	68

Abbildung 3-6: Ausschnitt aus dem ^1H - ^{15}N -HMBC-Spektrum der Verbindung 54 (Bezifferung nicht nach IUPAC)	69
Abbildung 3-7: ^1H -NMR-Spektrum (600 MHz, DMSO- d_6) der Verbindung 7d (Bezifferung nicht nach IUPAC)	72
Abbildung 3-8: Ausschnitt aus dem ^1H , ^{13}C -HSQC-Spektrum der Verbindung 7d (Bezifferung nicht nach IUPAC)	73
Abbildung 3-9: Eingeschränkte Drehbarkeit um die C-N-Bindung der Urethanstruktur in 7d führt zu unterschiedlichen Signalen von C12 und C13	74
Abbildung 3-10: Verlangsamte Ringinversion führt zu verbreiteten Signalen der Protonen H^{12} und H^{13} (unter dem Wassersignal im ^1H -NMR-Spektrum) und der daran gebundenen C-Atome in 7d	74
Abbildung 4-1: Mit MarvinSketch (Version 17.2.20.0) berechnete cpK_s -Werte der einfachen Deprotonierung der blau markierten NH_2 - bzw. NH -Gruppe von 34b und 55	76
Abbildung 4-2: A: Protolyse von 34b in Wasser. B: Deprotonierung von 34b durch Hydroxid-Ionen. C: Titrationskurve der Verbindung 34b	77
Abbildung 4-3: Die pH-Differenzen $\Delta\text{pH}/\Delta V$ (1/mL) wurden gegen das Volumen der zugesetzten Natriumhydroxidlösung (mL) aufgetragen	78
Abbildung 5-1: Bindemodus und Oberflächendarstellung in der nicht publizierten Kokristallstruktur der Verbindung 30c (links, sandbraun) in der Aurora-Kinase A und <i>docking</i> -Ergebnis der Verbindung 31a (rechts, sandbraun) in einer nicht publizierten Kokristallstruktur der Verbindung 30b der Aurora-Kinase A (aquamarin)	83
Abbildung 5-2: Bindemodi von Gefitinib (7a , rotgold, A) und der Verbindung 7b (rotgold, B) in der ATP-Bindetasche der EGFR (PDB: 4I22, grau)	86
Abbildung 5-3: Inhibitionsprofile von Gefitinib (7a) und der Verbindung 7b gegenüber 16 EGFR-Kinasevarianten (y-Achse) unter Angabe der pIC_{50} -Werte (x-Achse)	87

Abbildung 6-1: Bestimmung der kinetischen Löslichkeit mittels nephelometrischer Messung exemplarisch für die Verbindung **30c** (Einzelbestimmung)..... 110

Abbildung 6-2: Physikochemische Parameter für Diazepam (**57**) und Fenofibrat (**58**)..... 117

10.3 Schemataverzeichnis

Schema 3-1: Synthese des cyclischen Sulfamids **34a** 52

Schema 3-2: Synthese der *N*-alkylierten Sulfamide **34b–h** 54

Schema 3-3: Synthese des acetylierten Lactams **37** 56

Schema 3-4: Synthese der Verbindung **38** 57

Schema 3-5: Synthese der *N*-Phenylguanidiniumnitrate **40a–c** durch KOHFELD 57

Schema 3-6: Synthese der 2-Anilinopyrimidine mit Angabe der Rohausbeuten 58

Schema 3-7: Synthese der Aryloxyalkylbromidderivate **42a–b** 59

Schema 3-8: Synthese der Aryloxyethyl- und Aryloxypropylhalogenidderivate **43**, **44a–b** und **45a** mit Angabe der Ausbeuten 60

Schema 3-9: Synthese der Aryloxypropylchloridderivate **45b–c** 61

Schema 3-10: Synthese des Aryloxypropylchloridderivates **48** 61

Schema 3-11: Synthese von 2-Methyl-1,2,5-thiadiazolidin-1,1-dioxidderivaten **50a–d** 62

Schema 3-12: Synthese der NeuSIG enthaltenden 2-Anilinopyrimidine **31a–i**.. 65

Schema 3-13: Einführung einer Morpholinopropylseitenkette in Strukturen der 2-Anilinopyrimidine **30a–b** nach Methode A 67

Schema 3-14: Zweifach substituiertes Produkt beim Versuch der Einführung einer Morpholinopropylseitenkette in das 2-Anilinopyrimidin **30a** nach Methode B 67

Schema 3-15: Synthese der NeuSIG enthaltenden Anilinochinazoline **7b–i** 70

Schema 3-16: Synthese von Gefitinib (**7a**) 70

11 Literatur

1. Hughes, J. P.; Rees, S.; Kalindjian, S. B.; Philpott, K. L.: Principles of early drug discovery. *Br. J. Pharmacol.* **2011**, *162*, 1239–1249.
2. Keserü, G. M.; Makara, G. M.: The influence of lead discovery strategies on the properties of drug candidates. *Nat. Rev. Drug Discovery* **2009**, *8*, 203–212.
3. Di, L.; Kerns, E. H.; Carter, G. T.: Drug-like property concepts in pharmaceutical design. *Curr. Pharm. Des.* **2009**, *15*, 2184–2194.
4. Li, A. P.: Screening for human ADME/Tox drug properties in drug discovery. *Drug Discovery Today* **2001**, *6*, 357–366.
5. Eddershaw, P. J.; Beresford, A. P.; Bayliss, M. K.: ADME/PK as part of a rational approach to drug discovery. *Drug Discovery Today* **2000**, *5*, 409–414.
6. Arnott, J. A.; Planey, S. Lobo: The influence of lipophilicity in drug discovery and design. *Expert Opin. Drug Discovery* **2012**, *7*, 863–875.
7. Di, L.; Fish, P. V.; Mano, T.: Bridging solubility between drug discovery and development. *Drug Discovery Today* **2012**, *17*, 486–495.
8. Meanwell, N. A.: Improving drug candidates by design: a focus on physicochemical properties as a means of improving compound disposition and safety. *Chem. Res. Toxicol.* **2011**, *24*, 1420–1456.
9. Aungst, B. J.: Optimizing oral bioavailability in drug discovery: an overview of design and testing strategies and formulation options. *J. Pharm. Sci.* **2017**, *106*, 921–929.
10. L Hart, M.: Brief overview of various approaches to enhance drug solubility. *J. Dev. Drugs* **2013**, *02*.
11. Leeson, P. D.; Springthorpe, B.: The influence of drug-like concepts on decision-making in medicinal chemistry. *Nat. Rev. Drug Discovery* **2007**, *6*, 881–890.

12. Williams, H. D.; Trevaskis, N. L.; Charman, S. A.; Shanker, R. M.; Charman, W. N.; Pouton, C. W.; Porter, C. J. H.: Strategies to address low drug solubility in discovery and development. *Pharmacol. Rev.* **2013**, *65*, 315–499.
13. Caldwell: Compound optimization in early- and late-phase drug discovery: acceptable pharmacokinetic properties utilizing combined physicochemical, in vitro and in vivo screens. *Curr. Opin. Drug Discovery Dev.* **2000**, *3*, 30–41.
14. Mavromoustakos, T.; Durdagi, S.; Koukoulitsa, C.; Simcic, M.; Papadopoulos, M. G.; Hodoscek, M.; Golic Grdadolnik, S.: Strategies in the rational drug design. *Curr. Med. Chem.* **2011**, *18*, 2517–2530.
15. Aparoy, P.; Reddy, K. Kumar; Reddanna, P.: Structure and ligand based drug design strategies in the development of novel 5-LOX inhibitors. *Curr. Med. Chem.* **2012**, *19*, 3763–3778.
16. Klebe, G.: Wirkstoffdesign: Entwurf und Wirkung von Arzneistoffen, 2. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg **2009**, 153–167, 265–282.
17. Myers, P. L.: Will combinatorial chemistry deliver real medicines? *Curr. Opin. Biotechnol.* **1997**, *8*, 701–707.
18. Leelananda, S. P.; Lindert, S.: Computational methods in drug discovery. *Beilstein J. Org. Chem.* **2016**, *12*, 2694–2718.
19. Cozza, G.: The development of CK2 inhibitors: from traditional pharmacology to in silico rational drug design. *Pharmaceuticals* **2017**, *10*, 26/1-26/23.
20. Johnson, M.; Zaretskaya, I.; Raytselis, Y.; Merezuk, Y.; McGinnis, S.; Madden, T. L.: NCBI BLAST: a better web interface. *Nucleic acids research* **2008**, *36*, W5-9.
21. Wermuth C. G.; Ganellin, R.; Lindberg, P.; Mitscher, L. A.: Glossary of terms used in medicinal chemistry (IUPAC recommendations 1998). *Pure Appl. Chem.* **1998**, *70*, 1129–1143.

22. Portela, C.: Clinical needs as a starting point for different strategies in computational drug development. *Drug Res. (Stuttgart, Ger.)* **2019**, 69, 458–466.
23. Polgár, T.; Keserü G. M.: Integration of virtual and high throughput screening in lead discovery settings. *Comb. Chem. High Throughput Screening* **2011**, 14, 889–897.
24. Zhu, T.; Cao, S.; Su, P.-C.; Patel, R.; Shah, D.; Chokshi, H. B.; Szukala, R.; Johnson, M. E.; Hevener, K. E.: Hit identification and optimization in virtual screening: practical recommendations based on a critical literature analysis. *J. Med. Chem.* **2013**, 56, 6560–6572.
25. Lipinski, C. A.; Lombardo, F.; Dominy, B. W.; Feeney, P. J.: Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv. Drug Delivery Rev.* **2001**, 46, 3–26.
26. Walters, W. P.; Murcko, A. A.; Murcko, M. A.: Recognizing molecules with drug-like properties. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1999**, 3, 384–387.
27. Bickerton, G. Richard; Paolini, G. V.; Besnard, J.; Muresan, S.; Hopkins, A. L.: Quantifying the chemical beauty of drugs. *Nat. Chem.* **2012**, 4, 90–98.
28. Macarrón, R.; Luengo, J. I.: Yin and Yang in medicinal chemistry: what does drug-likeness mean? *Future Med. Chem.* **2011**, 3, 505–507.
29. Veber, D. F.; Johnson, S. R.; Cheng, H.-Y.; Smith, B. R.; Ward, K. W.; Kopple, K. D.: Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *J. Med. Chem.* **2002**, 45, 2615–2623.
30. Leeson, P. D.: Molecular inflation, attrition and the rule of five. *Adv. Drug Delivery Rev.* **2016**, 101, 22–33.
31. Savjani, K. T.; Gajjar, A. K.; Savjani, J. K.: Drug solubility: importance and enhancement techniques. *ISRN Pharm.* **2012**, 2012, 195727.
32. Avdeef, A.: Physicochemical profiling (solubility, permeability and charge state). *Curr. Top. Med. Chem.* **2001**, 1, 277–351.

33. Kerns, E. H.; Di, L.; Carter, G. T.: In vitro solubility assays in drug discovery. *Curr. Drug Metab.* **2008**, 9, 879–885.
34. Alsenz, J.; Kansy, M.: High throughput solubility measurement in drug discovery and development. *Adv. Drug Delivery Rev.* **2007**, 59, 546–567.
35. Di, L.; Kerns, E. H.: Biological assay challenges from compound solubility: strategies for bioassay optimization. *Drug Discovery Today* **2006**, 11, 446–451.
36. Amidon, G. L.; Lennernäs, H.; Shah, V. P.; Crison, J. R.: A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of *in vitro* drug product dissolution and *in vivo* bioavailability. *Pharm. Res.* **1995**, 12, 413–420.
37. Fahr, A.; Liu, X.: Drug delivery strategies for poorly water-soluble drugs. *Expert Opin. Drug Delivery* **2007**, 4, 403–416.
38. Saal, C.; Petereit, A. Christine: Optimizing solubility: kinetic versus thermodynamic solubility temptations and risks. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2012**, 47, 589–595.
39. Herbrink, M.; Schellens, J. H. M.; Beijnen, J. H.; Nuijen, B.: Inherent formulation issues of kinase inhibitors. *J. Controlled Release* **2016**, 239, 118–127.
40. Abramov, Y. A.; Sun, G.; Zeng, Q.; Zeng, Q.; Yang, M.: Guiding lead optimization for solubility improvement with physics-based modeling. *Mol. Pharmaceutics* **2020**, 17, 666–673.
41. Stegemann, S.; Leveiller, F.; Franchi, D.; Jong, H. de; Lindén, H.: When poor solubility becomes an issue: from early stage to proof of concept. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2007**, 31, 249–261.
42. Kerns, E. H.; Di, L.; Petusky, S.; Farris, M.; Ley, R.; Jupp, P.: Combined application of parallel artificial membrane permeability assay and Caco-2 permeability assays in drug discovery. *J. Pharm. Sci.* **2004**, 93, 1440–1453.

43. Kramer, C.; Heinisch, T.; Fligge, T.; Beck, B.; Clark, T.: A consistent dataset of kinetic solubilities for early-phase drug discovery. *ChemMedChem* **2009**, *4*, 1529–1536.
44. Bhattachar, S. N.; Deschenes, L. A.; Wesley, J. A.: Solubility: it's not just for physical chemists. *Drug Discovery Today* **2006**, *11*, 1012–1018.
45. Bergström, C. A. S.: Computational models to predict aqueous drug solubility, permeability and intestinal absorption. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* **2005**, *1*, 613–627.
46. Lipinski, C. A.: Drug-like properties and the causes of poor solubility and poor permeability. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods* **2000**, *44*, 235–249.
47. Workman, P.: How much gets there and what does it do?: The need for better pharmacokinetic and pharmacodynamic endpoints in contemporary drug discovery and development. *Curr. Pharm. Des.* **2003**, *9*, 891–902.
48. Thomas, V. Hayden; Bhattachar, S.; Hitchingham, L.; Zocharski, P.; Naath, M.; Surendran, N.; Stoner, C. L.; El-Kattan, A.: The road map to oral bioavailability: an industrial perspective. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* **2006**, *2*, 591–608.
49. O'Brien, Z.; Moghaddam, M. F.: A systematic analysis of physicochemical and ADME properties of all small molecule kinase inhibitors approved by US FDA from January 2001 to October 2015. *Curr. Med. Chem.* **2017**, *24*, 3159–3184.
50. Jain, N.; Yalkowsky, S. H.: Estimation of the aqueous solubility I: application to organic nonelectrolytes. *J. Pharm. Sci.* **2001**, *90*, 234–252.
51. Mannhold, R.; Poda, G. I.; Ostermann, C.; Tetko, I. V.: Calculation of molecular lipophilicity: state-of-the-art and comparison of log P methods on more than 96,000 compounds. *J. Pharm. Sci.* **2009**, *98*, 861–893.
52. Hughes, L. D.; Palmer, D. S.; Nigsch, F.; Mitchell, J. B. O.: Why are some properties more difficult to predict than others? A study of QSPR models of solubility, melting point, and Log P. *J. Chem. Inf. Model.* **2008**, *48*, 220–232.

53. Ishikawa, M.; Hashimoto, Y.: Improvement in aqueous solubility in small molecule drug discovery programs by disruption of molecular planarity and symmetry. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 1539–1554.
54. Lovering, F.; Bikker, J.; Humblet, C.: Escape from flatland: increasing saturation as an approach to improving clinical success. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 6752–6756.
55. Ertl, P.; Rohde, B.; Selzer, P.: Fast calculation of molecular polar surface area as a sum of fragment-based contributions and its application to the prediction of drug transport properties. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 3714–3717.
56. Hughes, J. D.; Blagg, J.; Price, D. A.; Bailey, S.; Decrescenzo, G. A.; Devraj, R. V.; Ellsworth, E.; Fobian, Y. M.; Gibbs, M. E.; Gilles, R. W.; Greene, N.; Huang, E.; Krieger-Burke, T.; Loesel, J.; Wager, T.; Whiteley, L.; Zhang, Y.: Physiochemical drug properties associated with in vivo toxicological outcomes. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 4872–4875.
57. Hopkins, A. L.; Keserü, G. M.; Leeson, P. D.; Rees, D. C.; Reynolds, C. H.: The role of ligand efficiency metrics in drug discovery. *Nat. Rev. Drug Discovery* **2014**, *13*, 105–121.
58. Skoda, E. M.; Sacher, J. R.; Kazancioglu, M. Z.; Saha, J.; Wipf, P.: An uncharged oxetanyl sulfoxide as a covalent modifier for improving aqueous solubility. *ACS Med. Chem. Lett.* **2014**, *5*, 900–904.
59. Wermuth, C. G.; Aldous, D.; Raboisson, P.; Rognan, D.: The practice of medicinal chemistry. 4. Auflage, Academic Press (Elsevier), San Diego **2015**, 723–745.
60. Walker, M. A.: Novel tactics for designing water-soluble molecules in drug discovery. *Expert Opin. Drug Discovery* **2014**, *9*, 1421–1433.
61. Charifson, P. S.; Walters, W. Patrick: Acidic and basic drugs in medicinal chemistry: a perspective. *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 9701–9717.
62. Manallack, D. T.; Prankerd, R. J.; Yuriev, E.; Oprea, T. I.; Chalmers, D. K.: The significance of acid/base properties in drug discovery. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 485–496.

63. Sells, T. B.; Chau, R.; Ecsedy, J. A.; Gershman, R. E.; Hoar, K.; Huck, J.; Janowick, D. A.; Kadambi, V. J.; LeRoy, P. J.; Stirling, M.; Stroud, S. G.; Vos, T. J.; Weatherhead, G. S.; Wysong, D. R.; Zhang, M.; Balani, S. K.; Bolen, J. B.; Manfredi, M. G.; Claiborne, C. F.: MLN8054 and Alisertib (MLN8237): discovery of selective oral aurora A inhibitors. *ACS Med. Chem. Lett.* **2015**, 6, 630–634.
64. Lasseter, K. C.; Gambale, J.; Jin, B.; Bergman, A.; Constanzer, M.; Dru, J.; Han, T. H.; Majumdar, A.; Evans, J. K.; Murphy, M. Gail: Tolerability of fosaprepitant and bioequivalency to aprepitant in healthy subjects. *J. Clin. Pharmacol.* **2007**, 47, 834–840.
65. Böcker, A.; Bonneau, P. R.; Hucke, O.; Jakalian, A.; Edwards, P. J.: Development of specific "drug-like property" rules for carboxylate-containing oral drug candidates. *ChemMedChem* **2010**, 5, 2102–2113.
66. Gleeson, M. P.: Generation of a set of simple, interpretable ADMET rules of thumb. *J. Med. Chem.* **2008**, 51, 817–834.
67. Ohura, K.; Nakada, Y.; Kotani, S.; Imai, T.: Design of fexofenadine prodrugs based on tissue-specific esterase activity and their dissimilar recognition by P-glycoprotein. *J. Pharm. Sci.* **2015**, 104, 3076–3083.
68. Hitchcock, S. A.: Structural modifications that alter the P-glycoprotein efflux properties of compounds. *J. Med. Chem.* **2012**, 55, 4877–4895.
69. Gao, H.; Marhefka, C.; Jacobs, M. D.; Cao, J.; Bandarage, U. K.; Green, J.: ROCK inhibitors 2. Improving potency, selectivity and solubility through the application of rationally designed solubilizing groups. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2018**, 28, 2616–2621.
70. Waring, M. J.; Johnstone, C.: A quantitative assessment of hERG liability as a function of lipophilicity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, 17, 1759–1764.
71. Chatman, L. A.; Morton, D.; Johnson, T. O.; Anway, S. D.: A strategy for risk management of drug-induced phospholipidosis. *Toxicol. Pathol.* **2009**, 37, 997–1005.

72. Donato, T. M.; Gómez-Lechón, M. J.: Drug-induced liver steatosis and phospholipidosis: cell-based assays for early screening of drug candidates. *Curr. Drug Metab.* **2012**, *13*, 1160–1173.
73. Park, E. Ji; Choi, J.; Lee, K. Choon; Na, D. Hee: Emerging PEGylated non-biologic drugs. *Expert Opin. Emerging Drugs* **2019**, *24*, 107–119.
74. Christiansen, E.; Due-Hansen, M. E.; Urban, C.; Grundmann, M.; Schröder, R.; Hudson, B. D.; Milligan, G.; Cawthorne, M. A.; Kostenis, E.; Kassack, M. U.; Ulven, T.: Free fatty acid receptor 1 (FFA1/GPR40) agonists: mesylpropoxy appendage lowers lipophilicity and improves ADME properties. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 6624–6628.
75. Yang, K. Mi; Shin, I. Chul; Park, J. Won; Kim, K.-S.; Kim, D. Kyong; Park, K.; Kim, K.: Nanoparticulation improves bioavailability of Erlotinib. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **2017**, *43*, 1557–1565.
76. Poulsen, J. Lykke; Brock, C.; Olesen, A. Estrup; Nilsson, M.; Drewes, A. Mohr: Clinical potential of naloxegol in the management of opioid-induced bowel dysfunction. *Clin. Exp. Gastroenterol.* **2014**, *7*, 345–358.
77. Reitz, A. B.; Smith, G. R.; Parker, M. H.: The role of sulfamide derivatives in medicinal chemistry: a patent review (2006–2008). *Expert Opin. Ther. Pat.* **2009**, *19*, 1449–1453.
78. Langdon, S. R.; Ertl, P.; Brown, N.: Bioisosteric replacement and scaffold hopping in lead generation and optimization. *Mol. Inf.* **2010**, *29*, 366–385.
79. Winum, J.-Y.; Scozzafava, A.; Montero, J.-L.; Supuran, C. T.: The sulfamide motif in the design of enzyme inhibitors. *Expert Opin. Ther. Pat.* **2006**, *16*, 27–47.
80. Guo, C.; Dong, L.; Kephart, S.; Hou, X.: An efficient synthesis of sulfamides. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 2909–2913.
81. Angeli, A.; Ferraroni, M.; Supuran, C. T.: Famotidine, an antiulcer agent, strongly inhibits helicobacter pylori and human carbonic anhydrases. *ACS Med. Chem. Lett.* **2018**, *9*, 1035–1038.
82. Barlier, A.; Jaquet, P.: Quinagolide-a valuable treatment option for hyperprolactinaemia. *Eur. J. Endocrinol.* **2006**, *154*, 187–195.

83. Dou, D.; Tiew, K.-C.; He, G.; Mandadapu, S. R.; Aravapalli, S.; Alliston, K. R.; Kim, Y.; Chang, K.-O.; Groutas, W. C.: Potent inhibition of norwalk virus by cyclic sulfamide derivatives. *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *19*, 5975–5983.
84. Roskoski, R.: Properties of FDA-approved small molecule protein kinase inhibitors. *Pharmacol. Res.* **2019**, *144*, 19–50.
85. Manning, G.; Whyte, D. B.; Martinez, R.; Sudarsanam, S.: The protein kinase complement of the human genome. *Science* **2002**, *298*, 1912–1934.
86. Zuccotto, F.; Ardini, E.; Casale, E.; Angiolini, M.: Through the "gatekeeper door": exploiting the active kinase conformation. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 2681–2694.
87. Taylor, S. S.; Kornev, A. P.: Protein kinases: evolution of dynamic regulatory proteins. *Trends Biochem. Sci.* **2011**, *36*, 65–77.
88. Schwartz, P. A.; Murray, B. W.: Protein kinase biochemistry and drug discovery. *Bioorg. Chem.* **2011**, *39*, 192–210.
89. Liao, J. J.-L.: Molecular recognition of protein kinase binding pockets for design of potent and selective kinase inhibitors. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 409–424.
90. Vulpetti, A.; Bosotti, R.: Sequence and structural analysis of kinase ATP pocket residues. *Farmaco* **2004**, *59*, 759–765.
91. Nowakowski, J.; Cronin, C. N.; McRee, D. E.; Knuth, M. W.; Nelson, C. G.; Pavletich, N. P.; Rogers, J.; Sang, B.-C.; Scheibe, D. N.; Swanson, R. V.; Thompson, D. A.: Structures of the cancer-related aurora-A, FAK, and EphA2 protein kinases from nanovolume crystallography. *Structure* **2002**, *10*, 1659–1667.
92. Liu, Y.; Gray, N. S.: Rational design of inhibitors that bind to inactive kinase conformations. *Nat. Chem. Biol.* **2006**, *2*, 358–364.
93. Willems, E.; Dedobbeleer, M.; Digregorio, M.; Lombard, A.; Lumapat, P. Noel; Rogister, B.: The functional diversity of aurora kinases: a comprehensive review. *Cell Div.* **2018**, *13*, 7.

94. Carmena, M.; Earnshaw, W. C.: The cellular geography of aurora kinases. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2003**, *4*, 842–854.
95. Goldenson, B.; Crispino, J. D.: The aurora kinases in cell cycle and leukemia. *Oncogene* **2015**, *34*, 537–545.
96. Meraldi, P.; Honda, R.; Nigg, E. A.: Aurora kinases link chromosome segregation and cell division to cancer susceptibility. *Curr. Opin. Genet. Dev.* **2004**, *14*, 29–36.
97. Matthews, N.; Visintin, C.; Hartzoulakis, B.; Jarvis, A.; Selwood, D. L.: Aurora A and B kinases as targets for cancer: will they be selective for tumors? *Expert Rev. Anticancer Ther.* **2006**, *6*, 109–120.
98. Fu, J.; Bian, M.; Liu, J.; Jiang, Q.; Zhang, C.: A single amino acid change converts aurora-A into aurora-B-like kinase in terms of partner specificity and cellular function. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2009**, *106*, 6939–6944.
99. Bavetsias, V.; Linardopoulos, S.: Aurora kinase inhibitors: current status and outlook. *Front. Oncol.* **2015**, *5*, 278.
100. Quartuccio, S. M.; Schindler, K.: Functions of aurora kinase C in meiosis and cancer. *Front. Cell Dev. Biol.* **2015**, *3*, 50.
101. Gill, A. L.; Verdonk, M.; Boyle, R. G.; Taylor R.: A comparison of physicochemical property profiles of marketed oral drugs and orally bioavailable anti-cancer protein kinase inhibitors in clinical development. *Curr. Top. Med. Chem.* **2007**, *7*, 1408–1422.
102. Lemmon, M. A.; Schlessinger, J.; Ferguson, K. M.: The EGFR family: not so prototypical receptor tyrosine kinases. *Cold Spring Harbor Perspect. Biol.* **2014**, *6*, a020768.
103. Tebbutt, N.; Pedersen, M. W.; Johns, T. G.: Targeting the ERBB family in cancer: couples therapy. *Nat. Rev. Cancer* **2013**, *13*, 663–673.
104. Pérez-Soler, R.: HER1/EGFR targeting: refining the strategy. *Oncologist* **2004**, *9*, 58–67.

105. Seshacharyulu, P.; Ponnusamy, M. P.; Haridas, D.; Jain, M.; Ganti, A. K.; Batra, S. K.: Targeting the EGFR signaling pathway in cancer therapy. *Expert Opin. Ther. Targets* **2012**, *16*, 15–31.
106. Real, F. X.; Rettig, W. J.; Chesa, P. G.; Melamed, M. R.; Old, L. J.; Mendelsohn, J.: Expression of epidermal growth factor receptor in human cultured cells and tissues: relationship to cell lineage and stage of differentiation. *Cancer Res.* **1986**, *46*, 4726–4731.
107. Wee, P.; Wang, Z.: Epidermal growth factor receptor cell proliferation signaling pathways. *Cancers* **2017**, *9*.
108. Singh, M.; Jadhav, H. R.: Targeting non-small cell lung cancer with small-molecule EGFR tyrosine kinase inhibitors. *Drug Discovery Today* **2018**, *23*, 745–753.
109. Chong, C. R.; Jänne, P. A.: The quest to overcome resistance to EGFR-targeted therapies in cancer. *Nat. Med.* **2013**, *19*, 1389–1400.
110. Le, T.; Gerber, D. E.: Newer-generation EGFR inhibitors in lung cancer: how are they best used? *Cancers* **2019**, *11*, 366–380.
111. Wang, S.; Song, Y.; Yan, F.; Liu, D.: Mechanisms of resistance to third-generation EGFR tyrosine kinase inhibitors. *Front. Med.* **2016**, *10*, 383–388.
112. Wang, S.; Song, Y.; Liu, D.: EAI045: the fourth-generation EGFR inhibitor overcoming T790M and C797S resistance. *Cancer Lett.* **2017**, *385*, 51–54.
113. Shah, K. N.; Bhatt, R.; Rotow, J.; Rohrberg, J.; Olivas, V.; Wang, V. E.; Hemmati, G.; Martins, M. M.; Maynard, A.; Kuhn, J.; Galeas, J.; Donnella, H. J.; Kaushik, S.; Ku, A.; Dumont, S.; Krings, G.; Haringsma, H. J.; Robillard, L.; Simmons, A. D.; Harding, T. C.; McCormick, F.; Goga, A.; Blakely, C. M.; Bivona, T. G.; Bandyopadhyay, S.: Aurora kinase A drives the evolution of resistance to third-generation EGFR inhibitors in lung cancer. *Nat. Med.* **2019**, *25*, 111–118.

114. Daina, A.; Michielin, O.; Zoete, V.: SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci. Rep.* **2017**, 7, 42717.
115. Gomtsyan, A.: Heterocycles in drugs and drug discovery. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2012**, 48, 7–10.
116. Berger, B.: Inhibitoren tumorrelevanter Proteinkinasen auf der Basis von 7-Acetyl-1,3,4,5-2*H*-1-benzazepin-2-on: Synthese und biologische Aktivität. Dissertation Technische Universität Braunschweig **2007**, 96–98.
117. Kitchen, D. B.; Decornez, H.; Furr, J. R.; Bajorath, J.: Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. *Nat. Rev. Drug Discovery* **2004**, 3, 935–949.
118. Xiang, M.; Cao, Y.; Fan, W.; Chen, L.; Mo, Y.: Computer-aided drug design: lead discovery and optimization. *Comb. Chem. High Throughput Screening* **2012**, 15, 328–337.
119. Klebe, G.: Wirkstoffdesign: Entwurf und Wirkung von Arzneistoffen, 2. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg **2009**, 102–103, 303–315.
120. Jones, G.; Willett, P.; Glen, R. C.; Leach, A. R.; Taylor, R.: Development and validation of a genetic algorithm for flexible docking. *J. Mol. Biol.* **1997**, 267, 727–748.
121. Jones, G.; Willett, P.; Glen, R. C.: Molecular recognition of receptor sites using a genetic algorithm with a description of desolvation. *J. Mol. Biol.* **1995**, 245, 43–53.
122. Taylor, R. D.; Jewsbury, P. J.; Essex, J. W.: A review of protein-small molecule docking methods. *J. Comput.-Aided Mol. Des.* **2002**, 16, 151–166.
123. Kroemer, R. T.: Structure-based drug design: docking and scoring. *Curr. Protein Pept. Sci.* **2007**, 8, 312–328.
124. The Cambridge Crystallographic Data Centre (CCDC): User Guide. <https://www.ccdc.cam.ac.uk/support-and->

- resources/ccdcresources/GOLD_User_Guide.pdf, abgerufen am 05.11.2019.
125. Pierce, A. C.; Sandrettom K. L.; Bemis, G. W.: Kinase inhibitors and the case for CH...O hydrogen bonds in protein-ligand binding. *Proteins: Struct., Funct., Genet.* **2002**, 49, 567–576.
126. Kufareva, I.; Abagyan, R.: Methods of protein structure comparison. *Methods Mol. Biol.* **2012**, 857, 231–257.
127. Verdonk, M. L.; Cole, J. C.; Hartshorn, M. J.; Murray, C. W.; Taylor, R. D.: Improved protein-ligand docking using GOLD. *Proteins: Struct., Funct., Genet.* **2003**, 52, 609–623.
128. Pettersen, E. F.; Goddard, T. D.; Huang, C. C.; Couch, G. S.; Greenblatt, D. M.; Meng, E. C.; Ferrin, T. E.: UCSF Chimera-a visualization system for exploratory research and analysis. *J. Comput. Chem.* **2004**, 25, 1605–1612.
129. Dodson, C. A.; Kosmopoulou, M.; Richards, M. W.; Atrash, B.; Bavetsias, V.; Blagg, J.; Bayliss, R.: Crystal structure of an aurora-A mutant that mimics aurora-B bound to MLN8054: insights into selectivity and drug design. *Biochem. J.* **2010**, 427, 19–28.
130. Sloane, D. A.; Trikić, M. Z.; Chu, M. L. H.; Lamers, M. B. A. C.; Mason, C. S.; Mueller, I.; Savory, W. J.; Williams, D. H.; Evers, P. A.: Drug-resistant aurora A mutants for cellular target validation of the small molecule kinase inhibitors MLN8054 and MLN8237. *ACS Chem. Biol.* **2010**, 5, 563–576.
131. Fancelli, D.; Moll, J.; Varasi, M.; Bravo, R.; Artico, R.; Berta, D.; Bindi, S.; Cameron, A.; Candiani, I.; Cappella, P.; Carpinelli, P.; Croci, W.; Forte, B.; Giorgini, M. Laura; Klapwijk, J.; Marsiglio, A.; Pesenti, E.; Rocchetti, M.; Roletto, F.; Severino, D.; Soncini, C.; Storici, P.; Tonani, R.; Zugnoni, P.; Vianello, P.: 1,4,5,6-tetrahydropyrrolo[3,4-c]pyrazoles: identification of a potent aurora kinase inhibitor with a favorable antitumor kinase inhibition profile. *J. Med. Chem.* **2006**, 49, 7247–7251.
132. Berger, B.: Inhibitoren tumorrelevanter Proteinkinasen auf der Basis von 7-Acetyl-1,3,4,5-2H-1-benzazepin-2-on: Synthese und biologische

- Aktivität. Dissertation Technische Universität Braunschweig **2007**, 33–35, 46, 65, 121–123, 127–128, 191–208, 248.
133. Verdonk, M. L.; Chessari, G.; Cole, J. C.; Hartshorn, M. J.; Murray, C. W.; Nissink, J. Willem M.; Taylor, R. D.; Taylor, R.: Modeling water molecules in protein-ligand docking using GOLD. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 6504–6515.
 134. McDonald, I. K.; Thornton, J. M.: Satisfying hydrogen bonding potential in proteins. *J. Mol. Biol.* **1994**, *238*, 777–793.
 135. Desiraju, G. R.: A bond by any other name. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **2011**, *50*, 52–59.
 136. Harris, T. H.; Mildvan, A. S.: High-precision measurement of hydrogen bond lengths in proteins by nuclear magnetic resonance methods. *Proteins: Struct., Funct., Genet.* **1999**, *35*, 275–282.
 137. Hossam, M.; Lasheen, D. S.; Abouzid, K. A. M.: Covalent EGFR inhibitors: binding mechanisms, synthetic approaches, and clinical profiles. *Arch. Pharm.* **2016**, *349*, 573–593.
 138. Solca, F.; Dahl, G.; Zoephel, A.; Bader, G.; Sanderson, M.; Klein, C.; Kraemer, O.; Himmelsbach, F.; Haaksma, E.; Adolf, G. R.: Target binding properties and cellular activity of afatinib (BIBW 2992), an irreversible ErbB family blocker. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2012**, *343*, 342–350.
 139. Wang, Y.; Guo, Z.; Li, Y.; Zhou, Q.: Development of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors against EGFR T790M. Mutation in non small-cell lung carcinoma. *Open Med.* **2016**, *11*, 68–77.
 140. Yosaatmadja, Y.; Silva, S.; Dickson, J. M.; Patterson, A. V.; Smaill, J. B.; Flanagan, J. U.; McKeage, M. J.; Squire, C. J.: Binding mode of the breakthrough inhibitor AZD9291 to epidermal growth factor receptor revealed. *J. Struct. Biol.* **2015**, *192*, 539–544.
 141. Gajiwala, K. S.; Feng, J.; Ferre, R.; Ryan, K.; Brodsky, O.; Weinrich, S.; Kath, J. C.; Stewart, A.: Insights into the aberrant activity of mutant EGFR kinase domain and drug recognition. *Structure* **2013**, *21*, 209–219.

142. Kim, S. J.; Park, H. B.; Lee, J. S.; Jo, N. H.; Yoo, K. H.; Baek, D.; Kang, B.-W.; Cho, J.-H.; Oh, C.-H.: Novel 1 β -methylcarbapenems having cyclic sulfonamide moieties: synthesis and evaluation of in vitro antibacterial activity. *Eur. J. Med. Chem.* **2007**, *42*, 1176–1183.
143. Preiss, M.: 1,2,5-Thiadiazolidin-1,1-dioxid und Homologe. *Chem. Ber.* **1978**, *111*, 1915–1921.
144. Ebden, M. R.; Meghani, P.; Bennion, C.; Cook, A. R.; Bonnert, R. V.: Pyrimidyl sulphone amide derivatives as chemokine receptor modulators. WO 2004/011443, A1, Feb 05, **2004**.
145. Lange, J. H. M.; van Vliet, B. J.: Fluoro-substituted 3,4-diaryl-4,5-dihydro-1*H*-pyrazole-1-carboxamidine derivatives having CB1-antagonistic activity. WO 2010/003760, A2, Jan 14, **2010**.
146. Akkari, R.; Alvey, L. J.; Bock, X. M.; Brown, B. S.; Claes, P. I. R.; Cowart, M. D.; Lemos, E. de; Desroy, N.; Duthion, B.; Gfesser, G. A.; Gosmini, R. L. M.; Housseman, C. G.; Jansen, K. K.; Ji, J.; Kym, P. R.; Lefrancois, J.-M.; Mammoliti, O.; Menet, C. J. M.; Merayo, N. M.; Newsome, G. J. R.; Palisse, A. M. E.; Patel, S. V.; Pizzonero, M. R.; Shrestha, A.; Swift, E. C.; van der Plas, S. E.; Wang, X.; Blicek, A. de: N-sulfonylated pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-6-carboxamides and method of use. WO 2017/060874, A1, Apr 13, **2017**.
147. Huisgen, R.; Ugi, I.; Brade, H.: Mittlere Ringe III. Eigenschaften und Reaktionen der 1,2-Benz-lactame. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1954**, *586*, 30–51.
148. Augustine, R. L.; Pierson, W. G.: Synthesis of dl-deethylbogamine. *J. Org. Chem.* **1969**, *34*, 1070–1075.
149. Chen, W.-Y.; Gilman, N. W.: Synthesis of 7-phenylpyrimido[5,4-*d*][1]benzazepin-2-ones. *J. Heterocycl. Chem.* **1983**, *20*, 663–666.
150. Kohfeld, S.: Untersuchungen zur Synthese, biologischen Aktivität und Stabilität von Paullonen und verwandten α -anellierten [1]Benzazepinonen. Dissertation Technische Universität Braunschweig, 2006, 51–55.

151. Moffat, D. F. C.; Allen, R. A.; Rapecki, S. E.; Davis, P. D.; O'Connell, J.; Hutchings, M. C.; King, M. A.; Boyce, B. A.; Perry, M. J.: 4-Thiophenoxy-N-(3,4,5-trialkoxyphenyl)pyrimidine-2-amines as potent and selective inhibitors of the T-cell tyrosine kinase p56lck. *Curr. Med. Chem.* **2004**, *11*, 747–753.
152. Rosa, J. G.; Harichian, B.; Bajor, J. S.; Bosko, C. A.; Drennan, D. J.; Nip, J. C.-S.: Skin care compositions comprising phenoxyalkyl amines. WO 2011/054804, A2, May 12, **2011**.
153. Prühs, C.: Strukturmodifikationen und Affinitätsuntersuchungen zur Aufklärung des Wirkmechanismus von Darponen. Dissertation Technische Universität Braunschweig **2007**, 54–58, 164.
154. Jiang, Y.; Chen, A.-C.; Kuang, G.-T.; Wang, S.-K.; Ou, T.-M.; Tan, J.-H.; Li, D.; Huang, Z.-S.: Design, synthesis and biological evaluation of 4-anilinoquinazoline derivatives as new c-myc G-quadruplex ligands. *Eur. J. Med. Chem.* **2016**, *122*, 264–279.
155. Boschelli, D. H.; Ye, F.; Wang, Y. D.; Dutia, M.; Johnson, S. L.; Wu, B.; Miller, K.; Powell, D. W.; Yaczko, D.; Young, M.; Tischler, M.; Arndt, K.; Discafani, C.; Etienne, C.; Gibbons, J.; Grod, J.; Lucas, J.; Weber, J. M.; Boschelli, F.: Optimization of 4-phenylamino-3-quinolinecarbonitriles as potent inhibitors of Src kinase activity. *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 3965–3977.
156. Knesl, P.; Röseling, D.; Jordis, U.: Improved synthesis of substituted 6,7-dihydroxy-4-quinazolineamines: tandutinib, erlotinib and gefitinib. *Molecules* **2006**, *11*, 286–297.
157. Mamat, C.; Pretze, M.; Gott, M.; Köckerling, M.: Synthesis, dynamic NMR characterization and XRD studies of novel *N,N*-substituted piperazines for bioorthogonal labeling. *Beilstein J. Org. Chem.* **2016**, *12*, 2478–2489.
158. Babić, S.; Horvat, A. J. M.; Mutavdžić Pavlović, D.; Kaštelan-Macan, M.: Determination of pKa values of active pharmaceutical ingredients. *TrAC, Trends Anal. Chem.* **2007**, *26*, 1043–1061.
159. MarvinSketch **2017**, 17.2.20.0, ChemAxon (<https://www.chemaxon.com>).

160. Chiba, K.; Kawakami, K.; Tohyama, K.: Simultaneous evaluation of cell viability by neutral red, MTT and crystal violet staining assays of the same cells. *Toxicol. In Vitro* **1998**, 12, 251–258.
161. Schmidt, C.: Synthese und bioanalytische Charakterisierung von neuen halogenierten N-heterozyklischen Carben Gold(I) Organometallkomplexen als potentielle Zytostatika und Antibiotika. Dissertation Technische Universität Braunschweig **2017**, 172–175.
162. Budha, N. R.; Frymoyer, A.; Smelick, G. S.; Jin, J. Y.; Yago, M. R.; Dresser, M. J.; Holden, S. N.; Benet, L. Z.; Ware, J. A.: Drug absorption interactions between oral targeted anticancer agents and PPIs: is pH-dependent solubility the Achilles heel of targeted therapy? *Clin. Pharmacol. Ther.* **2012**, 92, 203–213.
163. Delaney, J. S.: ESOL: estimating aqueous solubility directly from molecular structure. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **2004**, 44, 1000–1005.
164. Ali, J.; Camilleri, P.; Brown, M. B.; Hutt, A. J.; Kirton, S. B.: Revisiting the general solubility equation: in silico prediction of aqueous solubility incorporating the effect of topographical polar surface area. *J. Chem. Inf. Model.* **2012**, 52, 420–428.
165. Wölfel, S.: Neue Inhibitoren der Anaplastic Lymphoma Kinase. Dissertation Technische Universität Braunschweig, Shaker Verlag, Aachen **2014**, 161–163.
166. Bevan, C. D.; Lloyd, R. S.: A high-throughput screening method for the determination of aqueous drug solubility using laser nephelometry in microtiter plates. *Anal. Chem.* **2000**, 72, 1781–1787.
167. Palmer, D. S.; Mitchell, J. B. O.: Is experimental data quality the limiting factor in predicting the aqueous solubility of druglike molecules? *Mol. Pharmaceutics* **2014**, 11, 2962–2972.
168. Xia, G.; Benmohamed, R.; Morimoto, R. I.; Kirsch, D. R.; Silverman, R. B.: Deuteration and fluorination of 1,3-bis(2-phenylethyl)pyrimidine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione to improve its pharmacokinetic properties. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2014**, 24, 5098–5101.

169. Walker, M. A.: Improvement in aqueous solubility achieved via small molecular changes. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2017**, 27, 5100–5108.
170. Kasim, N. A.; Whitehouse, M.; Ramachandran, C.; Bermejo, M.; Lennernäs, H.; Hussain, A. S.; Junginger, H. E.; Stavchansky, S. A.; Midha, K. K.; Shah, V. P.; Amidon, G. L.: Molecular properties of WHO essential drugs and provisional biopharmaceutical classification. *Mol. Pharmaceutics* **2004**, 1, 85–96.
171. Armarego, W. L. F.; Chai, C. L. L.: Purification of laboratory chemicals. 5. Auflage, Butterworth-Heinemann (Elsevier Science), Burlington **2003**, 84, 343.
172. Molecular Operating Environment (MOE), 2018.01; Chemical Computing Group Inc., 1010 Sherbooke St. West, Suite #910, Montreal, QC, Canada, H3A 2R7 **2018**.
173. Marzaro, G.; Guiotto, A.; Pastorini, G.; Chilin, A.: A novel approach to quinazolin-4(3*H*)-one via quinazoline oxidation: an improved synthesis of 4-anilinoquinazolines. *Tetrahedron* **2010**, 66, 962–968.
174. McManus, J. M.; McFarland, J. W.; Gerber, C. F.; McLamore, W. M.; Laubach, G. D.: Sulfamylurea hypoglycemic agents. I. Synthesis and screening. *J. Med. Chem.* **1965**, 8, 766–776.
175. Rawson, D. J.; Storer, R. I.; Swain, N. A.: Sulfonamide derivatives. WO 2013/088315, A1, Jun 20, **2013**.
176. Grunewald, G. L.; Dahanukar, V. H.: Synthesis of 3-alkyl-8-substituted- and 4-hydroxy-8-substituted-2,3,4,5-tetrahydro-1*H*-2-benzazepines. *J. Heterocycl. Chem.* **1994**, 31, 1609–1617.
177. Murakami, H.; Kawabuchi, A.; Matsumoto, R.; Ido, T.; Nakashima, N.: A multi-mode-driven molecular shuttle: photochemically and thermally reactive azobenzene rotaxanes. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 15891–15899.
178. Chandrasekhar, M.; Srinivasulu, D.; Sessaiah, K.; Kumar, N.: A convenient and easy purification approach to high-yield synthesis of

- gefitinib as an anticancer agent from isovaniline. *Pharm. Chem. J.* **2014**, *48*, 520–524.
179. Zhang, Y.-Y.; Mi, J.-L.; Zhou, C.-H.; Zhou, X.-D.: Synthesis of novel fluconazoliums and their evaluation for antibacterial and antifungal activities. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 4391–4402.
180. Viswanadhan, V. N.; Ghose, A. K.; Revankar, G. R.; Robins, R. K.: Atomic physicochemical parameters for three dimensional structure directed quantitative structure-activity relationships. 4. Additional parameters for hydrophobic and dispersive interactions and their application for an automated superposition of certain naturally occurring nucleoside antibiotics. *J. Chem. Inf. Model.* **1989**, *29*, 163–172.
181. Klopman, G.; Li, J.-Y.; Wang, S.; Dimayuga, M.: Computer automated log P calculations based on an extended group contribution approach. *J. Chem. Inf. Model.* **1994**, *34*, 752–781.
182. Scientific databases I SRC, Inc. <https://www.srcinc.com/what-we-do/environmental/scientific-databases.html>, abgerufen am 11.02.2020.
183. Zhang, J.-H.; Chung, T. D. Y.; Oldenburg, K. R.: A simple statistical parameter for use in evaluation and validation of high throughput screening assays. *J. Biomol. Screening* **1999**, *4*, 67–73.

Danksagung

Zuerst möchte ich mich bei meinem Mentor Herrn Prof. Dr. C. Kunick bedanken. Neben der Überlassung eines spannenden und herausfordernden Themas bin ich ihm für seine hilfreichen Anregungen und seiner Unterstützung während der vergangenen Jahre sehr dankbar.

Herrn Prof. Dr. I. Ott (Institut für Medizinische und Pharmazeutische Chemie, TU Braunschweig) und seinem Arbeitskreis insbesondere Frau P. Lippmann danke ich für die Möglichkeit der Durchführung und Auswertung der Zytotoxizitätsassays.

Für die Durchführung der kinaseinhibitorischen Testungen möchte ich mich bei Herrn Dr. M. H. G. Kubbutat und Herrn Dr. F. Totzke bedanken (Fa. ProQinase GmbH, Freiburg, Deutschland).

Herrn Prof. Dr. S. Knapp und Herrn Dr. A. Chaikuad (Institut für Pharmazeutische Chemie, Goethe Universität Frankfurt am Main) danke ich für die Anfertigung der Kokristallstrukturen der Aurora-Kinase A.

Mein Dank gilt auch den Mitarbeitern vom Institut für Organische Chemie der TU Braunschweig, bei denen die Aufnahme der NMR-Spektren von Frau Dr. K. Ibrom, Frau P. Holba-Schulz und Frau G. Kraft in der NMR-spektroskopischen Abteilung erfolgte. Herrn Dr. U. Papke und Frau C. Mlynek danke ich für die Durchführung der massenspektroskopischen Untersuchungen.

Die zahlreichen Einwaagen für die biologischen Testungen und Löslichkeitsmessungen, aber auch der Aufnahme von IR-Spektren, der Durchführung der Elementaranalysen und der Probenvorbereitung für die NMR-Versuche danke ich Frau S. Meyer und Frau P. Reich von der analytischen Abteilung des Instituts für Medizinische und Pharmazeutische Chemie. Für die Bereitstellung von Chemikalien und Glasgeräten danke ich Herrn M. Söchtig und Frau J. Stiller-Stuve. Bei technischen Problemen konnten mir Herr F. Roese und Herr E. Hinz jederzeit behilflich sein. Auch Ihnen gebührt mein Dank. Herrn R. Hübner danke ich für die Wartung der Computer und der Hilfestellung bei IT-Problemen. Für die organisatorischen Angelegenheiten möchte ich mich bei Frau D. Eberle und bei Frau B. Thomas bedanken.

Ganz herzlich danke ich Herrn Dr. L. Preu für seine hilfreichen Anregungen bei der Auswertung von NMR-Spektren. Für die Betreuung während der Weiterbildung zum Fachapotheker für pharmazeutische Analytik danke ich Frau Dr. A. Timm.

Allen Mitarbeitern im Institut für Medizinische und Pharmazeutische Chemie danke ich für die aufregende und schöne Zeit. Hervorheben möchte ich hierbei die ehemaligen und gegenwärtigen Mitglieder des Arbeitskreises Herrn Dr. O. Orban, Herrn M. Immer, Frau Dr. R. Meine, Herrn Dr. C. Lechner, Frau M. Nöhre, Frau I. Ihnatenko, Herrn M. Müller, Frau M. Flaßhoff, Frau S. Schweda, Herrn J. Lindhof und Herrn J. Baumgarten, denen ich für die gemeinsame spaßige Zeit danken möchte.

Weiterhin danke ich den Kollegen des Praktikums des dritten Semesters für die gemeinsame Betreuungszeit.

Meinen Wahlpflichtfachstudenten Frau S. Peters und Frau J. Kölmel und meiner wissenschaftlichen Hilfskraft Frau M. Thiemann danke ich für ihre tatkräftige Unterstützung im Laboralltag.

Ein herzlicher Dank gilt auch allen Korrekturlesern der vorliegenden Arbeit.

Zu guter Letzt danke ich meiner Familie für die Unterstützung und den Rückhalt während des Studiums und der Promotion. Sie hatten stets ein offenes Ohr. Auch meiner Verlobten Sümerya danke ich für ihre Geduld und ihre aufbauenden Worte während dieser Zeit.